

Die Biokompatibilität von Dentinadhäsiven –
In vitro - Untersuchungen an oralen Zellen und
Mikroorganismen

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Jana Wiegand
geboren am 30.01.1982 in Nordhausen

Gutachter:

- 1. PD Dr. S. Eick, Jena**
- 2. Prof. Dr. D. Welker, Jena**
- 3. Prof. Dr. H. Jentsch, Leipzig**

Tag der öffentlichen Verteidigung: 05.01.2010

Abkürzungsverzeichnis

BHT	2,6-Di-Butylhydroxytoluol
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Nährmedium)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EPD	Dimethylaminoethylbenzoat
FCS	fetales Kälberserum (fetale calf serum)
HEMA	2-Hydroxyethylmethacrylat
m	Mittelwert
k.A.	keine Angabe
KBE	koloniebildene Einheiten (CFU = colony forming units)
PBS	gepufferte Phosphatsalzlösung (phosphate-buffered saline)
PEM-F	Pentamethacryloxyethylcyclophosphazenmonofluorid (Monofluorophosphazen-modifiziertes Polymethacrylat)
PEGDMA	Pentaethylenglycoldimethacrylat
Pyro-EMA	Tetramethacryloxyethylpyrophosphat (Phosphorsäure-modifiziertes Methacrylat)
s	Standardabweichung
SDS	Disodium-Succinat
TEGDMA	Triethylenglycoldimethacrylat
UDMA	Urethandimethacrylat

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	1
2. Einleitung	3
2.1. Grundlagen der Adhäsion	4
2.2. Dentinbondingsysteme	6
2.3. Toxizität und Biokompatibilität von Adhäsivsystemen	10
2.4. Biologische und mikrobiologische Prüfung	13
2.5. Die physiologische Mundflora und Entstehung der Plaque	14
2.6. Wechselwirkung zwischen Mikroorganismus, Werkstoff und Gewebe	16
3. Ziele der Arbeit	21
4. Methodik	23
4.1. Untersuchte Werkstoffe	23
4.2. Versuchsdurchführung	26
4.2.1. Verdünnungsreihe der Werkstoffe	26
4.2.2. Untersuchung des Zellstoffwechsels	27
4.2.3. Untersuchung des Bakterien-/Pilzwachstums	29
4.2.4. Untersuchung bakterieller Adhäsion am Zahnmodell	31
4.2.5. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung	35
4.3. Statistische Auswertung	35
5. Ergebnisse	36
5.1. Zelluläre Reaktionen	36
5.2. Einflüsse auf das mikrobielle Wachstum	40
5.3. Einflüsse auf die bakterielle Adhäsion am Zahnmodell	48
5.4. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zur bakteriellen Adhäsion	49
6. Diskussion	50
6.1. Diskussion der Methodik	50
6.2. Diskussion der Ergebnisse	57
6.2.1. Diskussion der zellulären Reaktionen	57
6.2.2. Diskussion der Einflüsse auf das mikrobielle Wachstum	60
6.2.3. Diskussion der Einflüsse auf die bakterielle Adhäsion am Zahnmodell	64
6.2.4. Diskussion der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zur bakteriellen Adhäsion	65

6.3. Klinische Konsequenz	66
7. Schlussfolgerungen	67
8. Literatur- und Quellenverzeichnis	69
9. Anhang	84
9.1. Messwerte und Ableitungen	84
9.2. Lebenslauf	103
9.3. Danksagung	104
9.4. Ehrenwörtliche Erklärung	105

1. Zusammenfassung

Dentinadhäsive sind zahnärztliche Werkstoffe, die eng mit Wirtszellen und der oralen Mikroflora in Kontakt stehen. Die Forschung ist derzeit bestrebt, biokompatible Materialien mit antibakteriellen Wirkungen zu entwickeln. Doch sind diese Eigenschaften wirklich in einem Produkt zu vereinen oder verbergen sich negative Effekte? Das Ziel dieser Untersuchung war es, den Einfluss von Dentinadhäsivsystemen auf Zellen und Mikroorganismen zu untersuchen und die Frage der biologischen Verträglichkeit zu klären.

Dazu wurden Komponenten der Adhäsivsysteme Syntac Classic, Xeno III und AdheSE sowie die Monomere HEMA und TEGDMA in verschiedenen Konzentrationen verdünnt. Diese Lösungen wurden bis zu 18 h mit humanen primären Gingivafibroblasten und Fibroblasten der Pulpa in Kontakt gebracht und die Aktivität des Zellstoffwechsels photometrisch mittels der mitochondrialen Dehydrogenase-Aktivität [MTT] bestimmt. Zur Prüfung der antimikrobiellen Aktivität wurden die Werkstoffe in verschiedenen Konzentrationen zu Suspensionen von *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinomyces viscosus* und *Candida albicans* gegeben. Nach Bebrütung der Mikroorganismen wurde die Zahl der koloniebildenden Einheiten [KBE] bestimmt. Außerdem wurden *in vitro* definierte Kavitäten an osteotomierten Weisheitszähnen präpariert, die mit Xeno III bzw. Syntac Classic beschickt wurden. Zur Ausbildung einer Pellikelschicht wurden die Zähne in künstlichen Speichel getaucht und die Anlagerung von *S. mutans* als auch einer Mischflora geprüft. Die in den Kavitäten anhaftende Zahl KBE wurde ermittelt und rasterelektronenmikroskopisch dargestellt. Die Ergebnisse wurden mit dem t-Test nach Student statistisch analysiert.

Bei den MTT-Untersuchungen wurden zellschädigende Effekte beobachtet, wobei diese mit steigender Konzentration der getesteten Substanzen zunahm. Die Pulpazellen reagierten empfindlicher als die Gingivafibroblasten. Die ermittelten KBE wiesen eine indirekte Proportionalität der Erregerzahl mit der Konzentration der Testsubstanzen nach. Eine Keimreduktion konnte besonders bei *P. gingivalis* und *A. viscosus* festgestellt werden. Besonders die Komponenten Syntac Primer und Syntac Adhesive aber auch Xeno III, AdheSE Primer sowie HEMA besaßen gute

antibakterielle Eigenschaften. AdheSE Bonding, Heliobond und TEGDMA führten hingegen nur zu geringen antimikrobiellen Effekten vorwiegend im anaeroben Bereich. Die Versuche zur Anlagerung zeigten eine größere Anzahl adhärenter Bakterien auf Xeno III als auf Syntac Classic.

Die Ergebnisse deuten auf eine direkte antibakterielle und dadurch kariesprotektive Wirkung hin. Jedoch korrelieren diese positiven Eigenschaften mit gleichzeitig zytotoxischen Wirkungen. Ein biologisch verträgliches Produkt konnte in dieser Untersuchung somit nicht gefunden werden. Wie die Ergebnisse zeigen, ist eine Irritation der Pulpa und von Wirtsgeweben nicht auszuschließen. In der adhäsiven Füllungstherapie sollte bei der Versorgung von Kavitäten neben materialsparendem Arbeiten auf einen ausreichenden Schutz von Pulpa und Gingiva geachtet werden.

2. Einleitung

Zahnfarbene Restaurationen nehmen einen stetig steigenden Stellenwert bei der Versorgung von Defekten im Milch- wie im permanenten Gebiss ein (*Geurtsen 1998*). Im bleibenden Gebiss kommen vor allem photopolymerisierte Kompositrestaurationen immer öfter zum Einsatz. Die 1958 von Bowen entwickelten neuartigen, zunächst nur für den Frontzahnbereich indizierten Füllungswerkstoffe verdrängen zunehmend das Amalgam als plastisches Füllmaterial im Seitenzahnbereich. Von Vorteil ist der Verzicht auf ausgedehnte Präparationen zur mechanischen Retention. Das defektorientierte, minimalinvasive Therapiekonzept hat neue Perspektiven in der Zahnmedizin eröffnet (*Hugo et al. 1996, Leinfelder 1996*). Aber auch die neuesten Komposite (Silorane) schrumpfen circa um einen Volumenprozent bei der Polymerisation (*Weinmann et al. 2005*). Um die Adaption am Schmelz bzw. Dentin zu gewährleisten und Spaltbildungen sowie deren Folgen zu verhindern, bedarf es deshalb eines adäquaten adhäsiven Verbundes.

Diese Tatsache hat der Entwicklung der Bondingsysteme (Adhäsivsysteme, Haftvermittler) zur Konditionierung der Zahnhartsubstanzen seit der Markteinführung 1978 großen Auftrieb gegeben (*Haller und Blunck 2003*). Fortschritte wurden erreicht, seitdem es möglich war, über mikromechanische Verankerung eine Haftung am Dentin zu etablieren (*Haller 1994, Van Meerbeck et al. 1994*). Neue Therapiemöglichkeiten wie die Befestigung von Keramikrestaurationen und die Dentinversiegelung zum Schutz der Pulpa, die Vermeidung postoperativer Sensibilitäten und die Behandlung überempfindlicher Zahnhälse wurden eröffnet (*Haller 1994, Blunck 1999, Pelka 1999*).

Neben der Optimierung der Retention und des Randschlussverhaltens ist die Forschung in den letzten Jahren um die Verringerung der Arbeitsschritte bestrebt. Zeitersparnis und einfache Anwendung werden besonders von den Zahnärzten gefordert. Die Frage nach der biologischen Kompatibilität des Produktes und Wechselbeziehungen mit dem oralen Mikromilieu werden meist weniger beachtet.

2.1. Grundlagen der Adhäsion

„Unter Adhäsion versteht man das Haften von Körpern aneinander, die in engem Kontakt zueinander stehen. Sie kommt zustande durch mechanische und/oder chemische Kräfte, wobei ... die mechanische Retention eine wichtigere Rolle spielt.“ (Blunck 2004, Blunck und Haller 1999). Die mechanische Verankerung an den Zahnhartsubstanzen erfolgt über Mikroporositäten und raue Oberflächen und wird durch geometrische (Verankerung im retentiven Relief) und rheologische Effekte (Aufschrumpfen auf das retentive Relief) wirksam (Welker 1996). Um eine Haftung mit zahnfarbenen Kunststoffen zu gewährleisten ist eine dünnfließende, gut benetzende Monomerlösung als Haftpartner (Adhäsiv) nötig, welche in das retentive Relief eindringt und sich innig verankert.

Den Grundstein der Adhäsivtechnik legte Hagger 1948, welcher erstmals ein Bonding erwähnte (Hagger 1948). Eine viel wichtigere Entdeckung erfolgte 1955 durch Buonocore: Er vermutete eine bessere Adhäsion von Komposit nach Ätzung des Schmelzes. Mit der Einführung der Schmelz-Ätz-Technik (Buonocore 1955) wurde eine neue Form der Füllungstherapie geschaffen und die Analyse des Einflusses von Säuren und Komplexbildnern wie EDTA auf den Schmelz begann. Heute werden vorwiegend Säuren in Gelform verwendet. Diese enthalten üblicherweise Phosphorsäure in Konzentrationen von 15 - 37 % und werden je nach Herstellerangabe 20 - 60 s appliziert (Blunck 2004). Auf Grund der unterschiedlichen Säurelöslichkeit der Hydroxylapatitkristalle $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ im Schmelzprisma kommt es entlang charakteristischer Vorzugsrichtungen, in Abhängigkeit von der verwendeten Säure, zu einer Zerstörung der Oberfläche mit Substanzverlusten von 5 - 40 μm im Sinne eines retentiven Ätzmusters (Körber und Ludwig 1993, Janda 1988a). Gleichzeitig wird durch die starke Aufräumung in Form von Zotten und Poren die Haftfläche vergrößert, sowie die Oberflächenenergie des Schmelzes und somit die Benetzbarkeit erhöht. Nach dem Trocknen ist das Ätzmuster an seiner milchig-trüben und opaken Farbe zu erkennen. Zur mikromechanischen Verankerung kann nun ein niedrigvisköser hydrophober Kunststoff (das Adhäsiv) aufgetragen werden, welcher sich nach der Polymerisation innig mit dem Zahnschmelz verzahnt. Infolge freier Valenzen in der Sauerstoffinhibitionsschicht dient er als chemischer Haftvermittler für das Komposit (Rathke 2002, Beham 1984).

Doch eine Retention am Schmelz ist in der Füllungstherapie selten ausreichend. Klinisch finden sich überwiegend Situationen, z.B. bei der Therapie einer Caries media bzw. Caries profunda oder im Zahnhalsbereich, bei denen ein Großteil der Kavität von Dentin ausgekleidet ist. Im Gegensatz zum Schmelz weist das Dentin – ein vitales Gewebe mit einem höheren organischen Anteil – einen heterogenen Aufbau auf. Strukturmerkmal dieser Zahnhartsubstanz sind die Dentintubuli mit der darin enthaltenen extrazellulären Flüssigkeit (dem Dentinliquor) und den Odontoblastenfortsätzen. Die Tubuli stellen eine direkte Verbindung zwischen Kavitätenboden bzw. freiliegendem Wurzeldentin und der Pulpahöhle her. Durch den in vivo nach außen gerichteten hydrostatischen Druck einer gesunden Pulpa von 20 bis 30 mm Hg ist eine völlige Trockenlegung von Dentin unmöglich (*Schäfer* 1999). Dieser hydrophile Charakter sorgt dafür, dass ohne zusätzliche, komplexe und zeitaufwändige Behandlung keine erfolgreiche Haftung mit dem chemisch hydrophoben Füllungswerkstoffen wie Kompositen oder Kompomeren zustande kommt. Die Lösung erfolgte mit der Einführung von kurzkettigen, hydrophilen Monomerlösungen, welche z.B. HEMA enthalten. Diese Haftmonomere (Primer) sind mit Hilfe von Lösungsmitteln wie Ethanol oder Aceton in der Lage in vorbehandeltes Dentin einzudringen und dessen Benetzbarkeit wesentlich zu erhöhen (*Brenner* 2004, *Rathke* 2002, *Schäfer* 1999). Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels bleiben sie als polares Agens auf der Zahnhartsubstanz zurück (*Schäfer* 1999).

Eine stabile Adhäsion am kompakten Dentin wird jedoch durch die Schmierschicht (smear layer) verhindert, die bei jeder Bearbeitung entsteht. Diese Auflagerung aus Schleifstaub, organischen und anorganischen Trümmern vermischt mit Dentinliquor, oft auch kontaminiert mit Speichel und Blut, ist nicht mittels Wasserstrahl zu entfernen. Sie stellt eine natürliche Barriere von ca. 0,5 - 5 µm Dicke gegen Bakterien und Chemikalien dar, welche die angeschliffenen Dentinkanälchen verbolzt und die Dentinpermeabilität verringert (*Schäfer* 1999). Für eine ausreichende Haftung muss die Schmierschicht entweder entfernt oder zumindest teilweise aufgelöst werden. Dies wird durch Säuren oder saure Monomerlösungen erreicht. Die Konditionierung führt wie beim Zahnschmelz zur oberflächlichen Demineralisation, wobei das peritubuläre Dentin mit seinem höheren Hydroxylapatitgehalt stärker aufgelöst wird als intertubuläres Dentin. Bei diesem Entkalkungsprozess löst sich die Kollagenmatrix – der organische Anteil, welcher die Innenwand des peritubulären Dentins auskleidet – vom intertubulären Dentin ab. Das

säureunlösliche Kollagengeflecht wird freigelegt und gleichzeitig die Öffnungen der Dentintubuli erweitert (*Janda 1988b*).

Im nächsten Schritt wird der Primer aufgetragen. Das hydrophile Monomer dringt tief in das Kollagenetzwerk ein und penetriert bis in Bereiche des Dentins, die nicht konditioniert wurden. Es dient als polares Agens zur Erhöhung der Oberflächenenergie (*Haller und Blunck 2003*). Erst jetzt ist eine gute Benetzung mit dem folgenden viskösen Adhäsiv gewährleistet. Dieser Haftvermittler mischt sich mit dem Primer und bildet die Hybridschicht, eine Mischung aus Kollagenetzwerk und Monomeren. Enthaltene Vernetzermomere tragen zur Stabilisierung bei. Die bifunktionellen Adhäsiv-Moleküle aus hydrophilen und hydrophoben Bestandteilen stellen die chemische Verbindung zwischen Dentin/Primer und Kunststoff-Füllungsmaterial her. Außerdem werden die freigelegten Tubuli durch trichterförmige Kunststoff-Zapfen (tags) teilweise aufgefüllt und verschlossen (*Haller und Blunck 2003*). Dies dient der mikromechanischen Verankerung und Versiegelung des Dentins. Vor Applikation des Füllungsmaterials wird das Dentinbonding lichtpolymerisiert.

2.2. Dentinbondingsysteme

Im Allgemeinen finden sich bei den Dentinbondingsystemen drei Komponenten, die je nach Präparat nacheinander oder gleichzeitig aufgetragen werden:

- **Konditionierer:** organische oder anorganische Säuren (Phosphorsäure, Maleinsäure); Chelatoren (EDTA), Metallsalze, Aminosäuren
- **Primer:** organische oder anorganische Säuren; hydrophile Monomere mit polaren Gruppen (HEMA, PEGDMA); Lösungsmittel (Wasser, Aceton, Alkohol)
- **Adhäsiv:** hydrophile Methacrylate (HEMA, PEGDMA); niedrigvisköse Dimethacrylate als Vernetzer; Glutaraldehyd als Stabilisator der Kollagenmatrix; Lösungsmittel (Aceton, Alkohol) (*Pioch et al. 1998*)

Die Schrittfolge und Komponentenanzahl wird bei den einzelnen Bondingverfahren auf unterschiedliche Art realisiert. Meist erfolgt heute die Einteilung der Adhäsivsysteme (Tabelle 1) nach dem Auflösungsmechanismus der smear layer (*Blunck 2004*). Die Schmierschicht wird nach der Präparation entweder vollständig

aufgelöst und entfernt, nur zum Teil aufgelöst oder bleibt erhalten und wird mit Kunststoff imprägniert. Bei der vollständigen Entfernung wird mittels Säuren oder anderen Konditionierungsmitteln, wie EDTA, die Schmierschicht aufgelöst und das Präzipitat durch Wasserspray entfernt. Neuere selbstkonditionierende Monomerlösungen lösen die smear layer nur teilweise auf und binden ausfallende Stoffe in die Hybridschicht ein. Systeme mit selektiver Schmelzätzung, bei denen die Schmierschicht als isolierende Barriere belassen wurde, erwiesen sich als nachteilig und finden heutzutage nur noch vereinzelt für Kompomere Verwendung (*Blunck und Haller 1999, Schäfer 1999*).

Tabelle 1: Einteilung von Dentinhaftvermittlern (*Blunck 2004, Haller und Blunck 2003*)

Behandlung der smear layer	Vorgehen beim Ätzen	Schmelz-Ätzung	Dentin-Ätzung	Priming	Bonding	Produktbeispiele
Vollständige Auflösung und Entfernung der Schmierschicht	Totalätzung von Schmelz und Dentin (total etch)	1		2	3	Syntac Classic Solobond Plus OptiBond FL
		1		2		Gluma One Bond Solobond Mono OptiBond Solo Plus
	Selektive Ätzung vom Schmelz und Dentinkond.	1	2	3	4	Gluma Denthesive (veraltet)
Teilweise Auflösung ohne Entfernung der Schmierschicht	Schmelz- und Dentinkond.	1	2		3	Syntac Classic Solobond Plus OptiBond FL
	Schmelz-Dentinkond. durch Primer (self etch)	1			2	AdheSE Clearfil SE Bond
		1				Xeno III Futurabond iBond
Erhalt und Einbindung der Schmierschicht	Selektive Ätzung vom Schmelz	1		2	3	Dyract PSA Prime & Bond 2.1. (nur Kompomere)

Bei Präparaten, welche die Schmierschicht vollständig entfernen, wird zunächst ein Konditionierungsmittel (Etchant) aufgetragen. Hierbei werden die Dentinkanälchen eröffnet. Durch Entkalkung des intertubulären Dentins wird das Kollagenfasergeflecht freigelegt. Entstehende Demineralisationsprodukte werden mit dem Wasserspray

ebenso wie beim Zahnschmelz entfernt. Frühere Vertreter dieser Gruppe (z.B. Gluma[®]) verwendeten nach selektiver Ätzung des Zahnschmelzes mit 37 %iger Phosphorsäure weniger aggressive EDTA-Lösungen zur Konditionierung des Dentins um Schädigungen der Pulpa zu vermeiden (*Haller und Blunck 2003*). Anschließend erfolgte die Applikation von Primer und Adhäsiv. Vereinfacht wurde dieses Verfahren mit der Entwicklung *dentinkonditionierender Primer* (z.B. Syntac Classic[®], A.R.T. Bond[®]), die Zusätze organischer Säuren enthalten. Nach selektiver Schmelzätzung dringen beim Auflösen der smear layer gleichzeitig Monomere in das demineralisierte Dentin ein (*Blunck und Haller 1999*).

Weil sich in vivo eine genaue Unterscheidung von Schmelz und Dentin bei Applikation der Phosphorsäure auf den Schmelz oft als sehr schwierig erwies, war es nahe liegend, die Konditionierung beider Zahnhartsubstanzen in einem Arbeitsschritt durchzuführen. Bei diesem Prinzip der **Totalätztechnik** (total etch) wurden zunächst schwache Säuren wie Maleinsäure (z.B. Scotchbond Multi Purpose[®]) oder Oxalsäure (z.B. Gluma 2000[®]) eingesetzt, deren Ätzwirkung am Schmelz jedoch umstritten sind (*Blunck und Haller 1999*). Bei den aktuellen Systemen wird 15 - 37 %ige Phosphorsäure verwendet. Die Einwirkzeit von etwa 30 - 60 s auf den Schmelz und 10 - 15 s auf das Dentin sollte nicht überschritten werden (*Glockmann und Hoyer 2004, Reichenbach 2004, Ernst 2001*). Der Zahnschmelz erhält sein typisches Ätzmuster und durch Herauslösen von Hydroxylapatitkristallen im inter- und peritubulären Dentin wird das Kollagengeflecht freigelegt. Auf Grund der oberflächlich stattfindenden Demineralisation wird Präzipitat gebildet. Dieses ist zusammen mit dem Ätzgel gründlich mit forciertem Wasserstrahl zu entfernen (*Schulein et al. 1986*).

Eine weitere Unterteilung des Totalätzverfahrens kann anhand der Arbeitsschritte geschehen: So gibt es die **Drei-Schritt-Systeme** (Mehr-Flaschen-Systeme; multi bottle total etch), bei welchen nach Konditionierung der dünnfließende Primer appliziert wird. Anschließend folgt das Adhäsiv als Verbundpartner. Produktbeispiele sind Syntac Classic[®], Gluma Solidbond[®], OptiBond FL[®] und Solobond Plus[®]. Physikalische Untersuchungen zeigen, dass diese seit Jahren in der Praxis bewährten Systeme zuverlässig sind und wenig techniksensibel auf Anwendungsfehler reagieren (*Reichenbach 2004, Frankenberger 2002, Inoue et al. 2001, Haller und Fritzenschaft 1999, Miyazaki et al. 1998*). Sie tragen den

unterschiedlichen Substraten Schmelz und Dentin optimal Rechnung (*Haller und Blunck 2003*).

Der Wunsch der Zahnärzte nach einer reduzierten Anzahl von Arbeitsschritten zur vermeintlich schnelleren Verarbeitung führte zu Bondingsystemen mit weniger Komponenten. Neue Produkte vereinen das Benetzen und Bonden in einer Komponente [Ein-Flaschen-Systeme; one bottle total etch]. Diese Primer-Adhäsive der **Zwei-Schritt-Systeme** wurden vor allem durch die Markteinführung der Kompomere unterstützt, die eine einfachere und schnellere Behandlung versprochen. Der mittlere Zeitgewinn durch die Reduzierung eines Schrittes erwies sich aber als relativ gering (*Haller und Blunck 2003*). Produktbeispiele sind OptiBond Solo[®], Prime & Bond NT[®], Syntac Sprint[®] (*Blunck und Haller 1999*).

Mit der einfacheren Verarbeitung muss jedoch eine weitaus höhere Techniksensitivität in Kauf genommen werden. Ursachen könnten ungenügende Penetration des Primer-Adhäsivs und Hybridisierung des Dentins sein (*Van Meerbeek et al. 1992, Van Meerbeek et al. 1999*), sowie die Gefahr eines Kollagenkollaps (*Blunck und Haller 1999*). Um das zu vermeiden, wurden saure Primer entwickelt, die Dentin und Schmelz ätzen und gleichzeitig in die konditionierten Oberflächen eindringen. Somit ist die Grenze des Säureangriffs identisch mit der Tiefe der Monomerinfiltration. Solche selbstkonditionierende Monomere, die an Methacrylat gebundene Phosphat- bzw. Carboxylatgruppen enthalten, machen eine Phosphorsäureätzung überflüssig (*Haller und Blunck 2003*). Diese **selbstkonditionierenden Systeme** (self etch) konnten sich schnell durchsetzen, weil eine gute Dentinhaftung bereits von den dentinkonditionierenden Systemen (Bsp. Syntac Classic[®]) bekannt war. Auch bei dieser Technik gibt es **Zwei-Schritt-Verfahren** (multi step self etch) und Ein-Schritt-Systeme (single step self etch). Bei den Zwei-Schritt-Verfahren wird zunächst ein dentin- und schmelzkonditionierender Primer aufgetragen und luftgetrocknet. Anschließend wird ein Adhäsiv appliziert und photopolymerisiert. Besonders Phosphorsäureester- und Methacrylsäureesterverbindungen sind unter diesen chemischen Bedingungen instabil und können in wässriger Lösung hydrolysiert werden (*Moszner et al. 2001*). Gebrauchsfertige Präparate (z.B. AdheSE[®], OptiBond Solo plus[®], Clearfil SE Bond[®]) enthalten deshalb stabilere Verbindungen, wie z.B. Phosphonate und Acrylamide (*Haller und Blunck 2003*). Schließlich wurden so genannte All-in-one-Adhäsive

entwickelt. Solche **Ein-Schritt-Systeme** (single step self etch) vereinen Ätzmittel, Primer und Adhäsiv in einer Flüssigkeit. Sie bestehen aus hydrophilen und hydrophoben Monomeren, sowie mit Säureresten veresterten Monomeren für die Azidität (*Blunck 2004*). Außerdem wird Wasser für die Hydrolyse der säureveresterten Monomere benötigt. Bei den meisten Produkten muss das selbstkonditionierende Primer-Adhäsiv erst aus zwei Fläschchen angemischt werden, wobei eine Lösung vorwiegend Monomere und die andere hauptsächlich Wasser enthält (z.B. Etch & Prime 3.0[®], Xeno III[®], One Up-Bond F[®], Adper Prompt L-Pop[®]). Die neuesten Entwicklungen stellen gebrauchsfertige Lösung zur Einmalapplikation dar (z.B. iBond[®], AQ-Bond[®]).

2.3. Toxizität und Biokompatibilität von Adhäsivsystemen

Jedes neue zahnärztliche Produkt durchläuft umfangreiche chemische und physikalische Tests, bevor es auf dem Dentalmarkt angeboten werden darf. Bei der klinischen Anwendung stehen Materialien wie die Füllungskunststoffe und die dazu benötigten Adhäsivsysteme im Dauerkontakt mit vitalem Gewebe. Zum einen tangieren sie die Odontoblastenfortsätze des Pulpa-Dentin-Systems, zum anderen die Zahnhartsubstanzen und umgebende Strukturen wie die marginale Gingiva.

Toxische Reaktionen können reversibel und irreversibel verlaufen. Die Wirkung kann sofort (akute Toxizität) oder nach längerer, permanenter Exposition (chronische Toxizität) eintreten. Das schädigende Potential einer Substanz wird dabei von Art, Dauer und Intensität der Wirkung bestimmt (*Janda 2007*). Nach der Exposition erfolgt der Transport der toxischen Substanz zum Wirkort (Invasion, toxikokinetische Phase). Dort läuft eine meist reversible Reaktion mit entsprechenden Rezeptoren des Makroorganismus ab (toxikodynamische Phase). Abschließend erfolgt der Abtransport vom Wirkort durch Ausscheidung, Speicherung, Bindung oder Metabolisierung der toxischen Substanz (Evasion) (*Fuhrmann 1999, Eisenbrand und Metzler 2001*). Deshalb müssen zur klinischen Beurteilung zahnärztlicher Materialien neben den chemisch-physikalischen Eigenschaften auch biologische Wirkungen berücksichtigt werden (*Klaiber et al. 1982*).

Gewebereaktionen durch gesteigertes Bakterienwachstum auf oder unter dem Werkstoff und erhöhte Plaqueakkumulation (*Schmalz 1977a*) sind genauso unerwünscht wie chemische Veränderungen des Mundhöhlenmilieus oder Veränderungen in der Mikroflora.

Obwohl die Mundschleimhaut gegenüber der äußeren Haut eine weitaus höhere Reizschwelle für toxische Reaktionen besitzt (*Herrmann 1985*), dürfen Produkte erst nach hinreichender Nutzen-Risiko-Abschätzung empfohlen werden. Seit Mitte der 60er Jahre müssen alle Werkstoffe, die sich im Kontakt mit Knochen, Dentin und Wurzelhaut befinden, auf mögliche toxische, allergisierende, karzinogene, teratogene, mutagene oder gewebeirritierende Reaktionen des Organismus geprüft werden. Sie gelten als Medikamente im Sinne des Arzneimittelgesetzes und unterliegen seit 07.08.2002 dem Medizinproduktegesetz. An zahnärztliche Werkstoffe wird demnach die grundlegende Forderung nach geringstmöglicher Alteration der kontaktierten Gewebe gestellt (*Weber und Netuschil 1992*).

Die Untersuchung von Werkstoffen wird durch Normen festgelegt. Es handelt sich dabei inhaltlich um Gütenormen, die z.B. festlegen welche Löslichkeit ein Werkstoff maximal besitzen darf. Zusätzlich gibt es Vorschriften, in denen die Anforderungen und Durchführung der Prüfverfahren beschrieben sind (*Viohl 1988*). Die genaue Beschreibung des Verfahrens ist notwendig, da oft kleine Proben beurteilt werden müssen bzw. werkstoffspezifische Prüfverfahren entwickelt worden sind. Die Bewertung toxikologischer Eigenschaften von Medizinprodukten erfolgt im Wesentlichen mit der Normenreihe EN ISO 10993 (Tabelle 2). Diese teilt die Materialien nach Art und Dauer des Körperkontaktes ein. Eine Modifizierung und Ergänzung speziell für dentale Produkte bietet die EN ISO 7405, welche sich ausschließlich auf die „Präklinische Beurteilung der Biokompatibilität von in der Zahnheilkunde verwendeten Medizinprodukten“ bezieht (Tabelle 3). Es ist jedoch zu betonen, dass nicht alle Prüfverfahren bei jeder Materialgruppe anzuwenden sind, sondern auch Kombinationen oder andere standardisierte Untersuchungsverfahren, wie z.B. OECD-Guidelines, sinnvoll sind (*Janda 2007*).

Tabelle 2: EN ISO Normenreihen zur biologischen Beurteilung von Medizinprodukten und zahnärztlichen Werkstoffen (Janda 2007)

EN ISO	Biologische Beurteilung von Medizinprodukten
10993 - 1	Beurteilung und Prüfung
10993 - 2	Tierschutzbestimmungen
10993 - 3	Prüfungen auf Genotoxizität, Karzinogenität und Reproduktionstoxizität
10993 - 4	Auswahl von Prüfungen zur Wechselwirkung mit Blut
10993 - 5	Prüfungen auf in vitro Zytotoxizität
10993 - 6	Prüfungen auf lokale Effekte nach Implantationen
10993 - 7	Ethylenoxid-Sterilisationsrückstände
10993 - 8	Auswahl und Eignung von Referenzmaterialien für biologische Prüfungen
10993 - 9	Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten
10993 - 10	Prüfungen auf Irritationen und Allergien vom verzögerten Typ
10993 - 11	Prüfungen auf systemische Toxizität
10933 - 12	Probenvorbereitung und Referenzmaterialien
10993 - 13	Qualitativer und quantitativer Nachweis von Abbauprodukten in Medizinprodukten aus Polymeren
10993 - 14	Qualitativer und quantitativer Nachweis von keramischen Abbauprodukten
10993 - 15	Qualitativer und quantitativer Nachweis von Anbauprodukten aus Metallen und Legierungen
10993 - 16	Entwurf und Ausdehnung toxikokinetischer Untersuchungen hinsichtlich Abbauprodukten und Extrakten
10993 - 17	Nachweis zulässiger Grenzwerte für herauslösbare Bestandteile
10993 - 18	Chemical characterization of materials (liegt nur als ISO Norm vor)
7405	Präklinische Beurteilung der Biokompatibilität von in der Zahnheilkunde verwendeten Medizinprodukten

Tabelle 3: Auswahl toxikologischer Untersuchungen nach EN ISO 7405 (Janda 2007)

EN ISO 7405 Prüfungen zur präklinischen Beurteilung der Biokompatibilität von in der Zahnheilkunde verwendeten Medizinprodukten
<ul style="list-style-type: none"> • Zytotoxizität • Sensibilisierung • Hautirritation und intrakutane Reaktivität • akute systemische Toxizität – inhalativ • subchronische Toxizität – oral • Genotoxizität • Lokale Effekte nach Implantation

Die wesentliche Voraussetzung für eine prognostisch gute und sichere Anwendung ist die Biokompatibilität. Zwischen der Biokompatibilität eines Materials und der Bereitschaft zur Plaqueakkumulation besteht jedoch kein Zusammenhang (*Weber und Netuschil* 1992). Selbst bei optimalen biologischen Eigenschaften sind lokale oder systemische Reaktionen nach Inkorporation nicht auszuschließen (*Klötzer und Reuling* 1990). Die Biokompatibilität dentaler Werkstoffe muss deshalb durch verschiedene biologische Prüfungen untersucht werden.

2.4. Biologische und mikrobiologische Prüfung

In der Regel werden bei der biologischen Untersuchung eines Materials drei Ebenen durchlaufen: Zunächst erfolgt die Prüfung auf eine akute systemische Toxizität bzw. chronische Giftigkeit durch so genannte Eliminations- und Toxizitätsteste (*Hermann* 1985). Ausgehend vom Tierversuch werden die Materialien unspezifisch in direkten Kontakt mit Haut oder Schleimhaut gebracht, implantiert oder auch durch Fütterung oder Inhalation auf Gewebeunverträglichkeit untersucht (*Finger* 1988). Außerdem finden Untersuchungen an geeigneten In vitro-Systemen statt, welche die Anwendung von In vivo-Versuchen erheblich reduzieren (*Welker et al.* 1986). Neben Implantations-, Zellkultur- und Hämolysetest werden nach DIN 13930 mikrobiologische Systeme zur Materialprüfung empfohlen (*Klötzer und Schmalz* 1986). Oft korrelieren antibakterielle Wirkung und biologische Verträglichkeit indirekt proportional (*Klötzer und Reuling* 1990). Auf Grund stoffwechselspezifischer und morphologischer Unterschiede müssen bakterielle und zelluläre Testsysteme gesondert betrachtet werden (*Schmalz* 1977b). Außerdem sollte auf Grund unterschiedlicher Sensitivität verschiedener Spezies auf exogene Faktoren immer ein breites Spektrum an Mikroorganismen integriert werden.

In der zweiten Phase werden spezifische Applikationstests gemäß zahnärztlicher Anwendung im Tierversuch durchgeführt. Hier finden biochemische, biophysikalische, histologische und histochemische Methoden Anwendung. Nach gründlicher Beurteilung der gewonnen Ergebnisse kann mit kontrollierten, klinischen Studien am menschlichen Organismus begonnen werden. Erst wenn reproduzierbare und statistisch fassbare Resultate mehrerer Untersucher und Behandler mit

standardisierten Versuchsreihen eine biologische Unbedenklichkeit gewährleisten, darf ein Produkt auf den Markt eingeführt werden (*Finger 1988, Hermann 1985*).

Jede Integration eines Werkstoffes in das Biotop Mundhöhle führt zu Wechselwirkungen mit der vorhandenen Mikroflora (*Bleischwitz und Erbsmehl 1985*). Auch ein in seiner Biokompatibilität bestätigter Werkstoff kann infolge fehlender antimikrobieller Wirkung durch erhöhte Plaqueanlagerung eine Noxe darstellen (*Weber und Netuschil 1992*). Nur ein bioinertter Stoff schließt eine Wachstumsförderung von Mikroorganismen aus und ist biokompatibel (*Klötzer und Reuling 1990*). Antibakterielle Eigenschaften werden zwar von manchen Herstellern als herausragendes Kriterium ihres Produktes angepriesen, sind aber meist unzureichend in Untersuchungen belegt. Oft werden hohe Konzentrationen bedenklicher Inhaltsstoffe in Kauf genommen.

2.5. Die physiologische Mundflora und Entstehung der Plaque

Das Biotop Mundhöhle umfasst mehr als 300 verschiedene Bakterienarten und Pilze, die regelmäßig angetroffen werden (*Asikainen und Alaluusua 1993*). Neben dieser Normalflora findet sich außerdem eine Vielzahl von Mikroorganismen im Sinne einer Durchgangsflorea, wie die Enterobakterien, da die Mundhöhle ein offenes Ökosystem darstellt. Bei relativ konstantem Milieu bildet sie eine Biozönose zwischen Produzenten, Konsumenten und Destruenten aus. Der Makroorganismus toleriert die Mikroorganismen und steht mit ihnen im Gleichgewicht. Bei Verdrängung der normalen Standortflora durch Änderung exogener (Mundhygiene, Ernährung) oder endogener Faktoren (Allgemeinzustand, Alter) können aber auch harmlose Kommensalen sich vermehren und Pathogenität erlangen. Die Verschiebung des Gleichgewichts äußert sich in der Auslösung von Krankheitssymptomen des Makroorganismus (*Kayser et al. 2001*). Neben chronischen Erkrankungen, wie Karies und Parodontitis, können auch extraorale Infektionen entstehen, wie die bakterielle Endokarditis (*Brandis et al. 1994*). Über Läsionen in der Mundschleimhaut dringen Keime in das Gefäßsystem ein und führen zu einer transitorischen Bakteriämie mit Ausbildung eines Biofilms an den Herzklappen prädisponierter Patienten (*Asikainen und Alaluusua 1993, Kayser et al. 2001*). Exogene Veränderungen des dynamischen Gleichgewichts können aber auch durch

konservierende oder prothetische Maßnahmen verursacht werden. Derartige Verschiebungen werden durch die Mikroorganismen toleriert oder über adaptive Vorgänge kompensiert. Zudem entstehen durch die dauerhaft inkorporierten Restaurationen neue ökologische Nischen für mikrobielle Bewohner (*Dierig 2000*).

In der Mundhöhle ist die artenreichste und quantitativ höchste Zahl an Bakterien in der supra- und subgingivalen Plaque vorhanden. Ursächlich dafür ist das Bestreben des überwiegenden Teiles der Mikroflora an feste Oberflächen zu adhären. Neben oralen Streptokokken finden sich Aktinomyzeten, Neisserien, Veillonellen (*Xiao et al. 1993*), sowie vor allem subgingival in höheren Zahlen vorkommend Fusobakterien, *Prevotella* und *Porphyromonas sp.* Weiterhin wurden Laktobakterien, Peptostreptokokken, Treponemen und andere regelmäßig vorkommende anaerobe Gattungen identifiziert (*Sutter 1984*). Der überwiegende Teil der Bakterien sind anaerob lebende Organismen, wobei ihre Zahl mit dem Alter zunimmt (*Sutter 1984*).

Die Bildung eines Biofilmes auf dem Zahnschmelz erfolgt unmittelbar nach Reinigung der Zähne durch Adhäsion von negativ geladenen, sauren Speichelproteinen und Glykoproteinen an Phosphatgruppen des Schmelzes (*Weber 2003, Hannig 1994*). Dieser unstrukturierte, azelluläre Film – das sogenannte exogene Schmelzoberhäutchen (Pellikel) – dient als Schutz vor Erosion und steuert die Remineralisation. Durch Interaktion von gebundenen Speichelproteinen und – glykoproteinen in der Pellikel mit Mikroorganismen kommt es zur Adhäsion von Bakterien an orale Oberflächen und Bildung der Plaque (*Newman et al. 1993, van Nieuw Amerongen 1991*). Initiale Besiedler stellen Streptokokken und Aktinomyzeten als so genannte „Pionierkeime“ dar (*Weber 2003*). Speichelproteine stellen einen selektiven Rezeptor für bestimmte Bakterien dar, die bereits für die Anheftung von Streptokokken identifiziert wurden (*Bergmann et al. 1990, Bergmann und Gülzow 1995a*). Somit bildet sich eine spezifische mikrobielle Zusammensetzung an der Zahnoberfläche aus. Zudem wurden gewisse Antigene in der Zellwand von *Streptococcus sanguinis* gefunden, die als Liganden für solche potentiellen Rezeptoren gelten (*Bergmann und Gülzow 1995b*). Neben den an die Pellikel gebundenen Speichelproteinen gibt es auch frei im Speichel verfügbare Proteine, die ebenfalls Rezeptoren für Mikroorganismen darstellen. Dadurch kann je nach Kapazität an freien Proteinen und Glykoproteinen ein Teil der Mikroorganismen direkt im Speichel aggregiert werden, so dass diese nicht mehr an strukturgleiche

gebundene Proteine in der Pellikel adhären können (*van Nieuw Amerongen 1991*). Dieser Schutzmechanismus kann jedoch nur einen kleinen Teil der Bakterienflora „abfangen“. Durch Aggregation weiterer verschiedenster Bakteriengattungen kommt es zur Akkumulation und Reifung der Plaque. Im ausdifferenzierten Zustand findet man Streptokokken, Aktinomyzeten, Fusobakterien, Bacteroides, Prevotella und Spirochäten (*Weber 2003*). Durch den Metabolismus der Mikroorganismen fallen bei Substratzufuhr vorwiegend saure Endprodukte in Form organischer Säuren an. Diese führen zur Demineralisation des Zahnschmelzes und zu Karies. Außerdem führen ausgeschiedene Stoffwechselprodukte und Toxine zu Entzündungen der Mundschleimhaut. Durch Veränderung der Plaqueökologie, Bakterieninvasion in das Taschenepithel und Abwehrmechanismen durch den Wirt kann somit aus einer chronischen Gingivitis eine chronische Parodontitis hervorgehen. Die Progression der Parodontopathien mit fortschreitendem Attachment- und Knochenverlust erfolgt dabei diskontinuierlich in Phasen der Exazerbation und Remission (*Weber 2003*).

2.6 Wechselwirkung zwischen Mikroorganismus, Werkstoff und Gewebe

Plaqueeinlagerung findet nicht nur auf dem Zahnschmelz statt. Auf jedem inkorporierten zahnärztlichen Material kommt es zur Pellikelbildung und Ausbildung von Zahnbelag (*Jendresen und Glantz 1981, Orstavik et al. 1981*). Dabei weist die Pellikelschicht stets die gleichen Eigenschaften auf (*Jendresen und Glantz 1981*). Die Zusammensetzung und das Akkumulationsverhalten der Plaque sind jedoch werkstoffspezifisch. Plaqueeinlagerung und -gewichtszunahme korrelieren mit der Oberflächenenergie und -rauigkeit des Substrates (*Blunden et al. 1994, Kawai und Urano 2001, van Dijk et al. 1987*) und können bei Oberflächendefekten durch mechanische Alterationen oder Degeneration sogar verstärkt auftreten (*Kawai und Urano 2001, Kramer et al. 1990*). Neben morphologischen und physikalischen Eigenschaften des zahnärztlichen Materials spielen auch die chemische Zusammensetzung sowie die Wechselwirkung mit oralen Mikroorganismen eine entscheidende Rolle.

In der Literatur sind sowohl keimeliminierende Wirkungen von Dentalwerkstoffen als auch wachstumsfördernde Einflüsse auf die Mikroflora beschrieben worden (*Ergucu et al. 2005, Friedl et al. 1992, Oehring et al. 1992, Orstavik und Hensten-Pettersen*

1978, *Welker et al.* 1985). Nach Inkorporation eines Werkstoffs können durch die gesteigerte Plaquebildung eine erhöhte Kariesanfälligkeit und ausgeprägte Schleimhautentzündungen resultieren (*Klötzer 1976, Orstavik et al.* 1981, *Schmalz 1977a*). Der passiven Besiedlung von Werkstoffen stehen zudem adaptive Prozesse der Bakterien gegenüber. Einige Mikroorganismen sind in der Lage, Enzyme zu synthetisieren, die den Abbau polymerer Verbindungen erleichtern (*Engelhardt 1970*). Weiterhin beweisen In vitro-Untersuchungen den enzymatischen Abbau von Polymeren bestehend aus TEGDMA und Bis-GMA durch Esterasen, die den Hydrolasen des Speichels ähnlich sind. Dabei setzt die hydrolytische Aktivität der Esterasen die Oberflächenhärte der Polymere so herab, dass mechanische Abnutzung und Erosion schneller voran schreiten können und Substanzverluste auftreten (*Freund und Munksgaard 1990, Göpferich 1996, Larsen et al.* 1992). Dieser Abbau stellt sich auch bei Kompositen durch Spaltbildung an der Füller-Matrix-Kontaktzone dar (*Soderholm et al.* 1984).

Die Werkstoffdegradation durch enzymatische Zersetzung bei gleichzeitiger Erhöhung der Oberflächenrauigkeit und somit der Plaquebesiedlung ist nur eine Interaktion, die im Zusammenspiel Mikroflora – Dentalmaterial – orales Biotop zu finden ist. Die chemische Zusammensetzung der verarbeiteten Werkstoffe und ihre Wirkung auf umgebende Gewebe und Lebewesen sind ebenso von Interesse. So ist die mögliche Löslichkeit von Inhaltsstoffen der Bondingmaterialien in den Speichel und deren toxische Potenz auf organische Strukturen noch nicht hinreichend geklärt. Untersuchungen an Kompositen mittels Gaschromatographie und Massenspektroskopie haben gezeigt, dass vor allem organische Verbindungen, wie unreaktierte Restmonomere, abgegeben werden (*Bagis und Rueggeberg 1997, Ferracane 1994, Geurtsen 1998, Lee et al.* 1995, *Sideridou et al.* 2003, *Spahl et al.* 1998, *Tanaka et al.* 1991, *Yap et al.* 2000). Als Hauptbestandteil ist TEGDMA neben anderen Monomeren, wie UDMA und Bis-GMA, in den Eluaten nachgewiesen worden (*Geurtsen 1998, Ortengren et al.* 2001, *Sideridou und Achilias 2005, Spahl et al.* 1998, *Tanaka et al.* 1991). Die extrahierten Substanzen können abhängig von der gelösten Konzentration durchaus ein toxisches Potential in sich tragen. Die Menge korreliert mit der chemischen Materialzusammensetzung, dem Vernetzungsgrad, der Hydrophilie und dem Lösungsverhalten der einzelnen Bestandteile, welche Kinetik und Mechanismus des Lösungsprozesses beeinflussen (*Ferracane 1994, Ortengren et al.* 2001). Die Löslichkeit biologisch bedenklicher Substanzen kann demnach

verändernd auf das umgebende Milieu wirken. Außerdem hängt das Ausmaß der Löslichkeit von der Aggressivität des Extraktionsmediums ab (*Geurtsen 1998, Lee et al. 1995, Spahl et al. 1998*). Methanol eluiert deutlich mehr Bestandteile als Wasser. Ferracane ermittelte deshalb das Lösungsverhalten von Speichel zwischen diesen beiden Extraktionsmedien (*Ferracane 1994*). Außerdem kann ein vom Neutralisationspunkt stark abweichender pH-Wert eine gesteigerte Löslichkeit bestimmter Substanzen verursachen (*Geurtsen 1998*).

Dem vorwiegend initial auftretenden Prozess des HerauslöSENS von Restmonomer können sich die bereits erwähnten Abbau- und Erosionsprozesse während der Funktionsperiode anschließen. Durch enzymatische Kettenspaltung des Polymernetzwerkes werden Oligomere und Monomere freigesetzt. Schließlich kommt es zur Erosion als irreversibler Substanzverlust. Dabei dringt Wasser in das Polymer ein und verursacht eine Quellung des Netzwerkes (*Braden und Davy 1986, Göpferich 1996, Ortengren et al. 2001, Sideridou et al. 2003*). Die Dehnung des intermolekularen Raumes triggert den chemischen Abbau. Neben aktiver Katalyse durch Enzyme verschiedenster Herkunft, die von Mikroorganismen, aus dem Speichel oder von abgestorbenen Zellen stammen, findet eine passive hydrolytische Spaltung der Polymere statt. Dadurch kommt es zur Desintegration des Werkstoffs mit Bildung von Poren und Spalten (*Göpferich 1996*). Auf Grund des Absinkens des pH-Wertes durch Abspaltung säurefunktioneller Gruppen – wie Methacrylsäure (*Yap et al. 2000*) – wird der Abbau und die Löslichkeit der freigewordenen Substanzen progressiv erhöht. Dieses „Altern“ führt nachweislich zu Gewichtsreduktionen von Polymeren um 2 % (*Ferracane 1994*). Letztlich führen die diffundablen niedrigmolekularen Verbindungen zu einer Verstärkung des osmotischen Druckes innerhalb des Netzwerkes mit weiterer Quellung und Fortsetzung des irreversiblen Zersetzungsprozesses.

Die erörterten Prozesse veranschaulichen die möglichen Wechselbeziehungen zwischen Werkstoff und seiner mikrobiellen Umgebung. Zahnärztliche Werkstoffe wie Dentinadhäsive interagieren aber nicht allein mit der mikrobiologischen Flora des Biotops Mundhöhle, sondern stehen ebenso mit oralen Geweben in Beziehung. In vitro-Untersuchungen bescheinigen eine direkte Korrelation zwischen zell- und bakterientoxischen Reaktionen und der Konzentration des untersuchten Stoffes. Antimikrobielle Wirkung und biologische Verträglichkeit sind jedoch meist negativ

korreliert. Eine Hemmung des bakteriellen Wachstums kann mit einer Steigerung der Zytotoxizität und damit der Gewebeunverträglichkeit einhergehen (*Welker et al.* 1984). Scheinbare Biokompatibilität durch fehlende antimikrobielle und zellschädigende Wirkungen kann aber indirekt durch stimuliertes Wachstum und übermäßige Plaqueretention wiederum zur Noxe werden.

Dentinhaftvermittler beeinflussen im Zahnhalsbereich als Versiegler oder auch zu sehr geringen Teilen am marginalen Rand und bei Mikroleakages durch Abgabe löslicher Stoffe die Gingivazellen. Ebenso besteht eine Wirkung auf die wahrscheinlich wesentlich empfindlicheren Zellen des pulpalen Gewebes, mit denen gerade das Dentinadhäsiv über die Tubuli in engem Kontakt steht. Eigentlich soll der Haftvermittler das Dentin versiegeln und somit vor Monomerpassage schützen. Doch nicht nur das Füllungsmaterial sondern die Adhäsivsysteme selbst geben Substanzen ab (*Gerzina und Hume* 1996). Bei In vitro-Untersuchungen an extrahierten Zähnen fanden sich in Adhäsiven enthaltene Substanzen in der Pulpa. Dabei wurden vor allem HEMA und TEGDMA nachgewiesen (*Gerzina und Hume* 1996, *Hamid und Hume* 1997, *Huang und Chang* 2002, *Kaga et al.* 2001, *Schmalz et al.* 2002). Die Diffusionsrate der Monomere zur Pulpa stieg mit sinkender Restdentinstärke und war proportional der Porengröße (*Bouillaguet et al.* 1998, *Camps et al.* 1997, *Hamid und Hume* 1997, *Hanks et al.* 1992, *Hanks et al.* 1994). In vivo-Versuchsreihen wiesen ebenfalls den direkten Zusammenhang zwischen Restdentinstärke und Pulpareaktion histologisch nach (*Camps et al.* 2000, *Costa et al.* 2003, *Hebling et al.* 1999). Die verschiedenen Zellarten der Pulpa reagieren in unterschiedlicher Ausprägung auf die herausgelösten Substanzen abhängig von deren Konzentration. Weiterhin sind gerade selbststützende Systeme zur Dentinversiegelung unbrauchbar, sie verhalten sich wie eine „permeable Membran“ (*Itthagarun et al.* 2004, *Tay et al.* 2002). Mehrere Studien haben gezeigt, dass eine direkte Abdeckung der exponierten Pulpa mit Adhäsivsystemen zu chronischer Entzündung und mangelnder Regeneration führt (*Accorinte et al.* 2005, *Cehreli et al.* 2000, *Costa et al.* 2001, *Koliniotou-Koumpia und Tziafas* 2005, *Subay und Demirci* 2005).

Viele Untersuchungen zeigen, dass in die Mundhöhle inkorporierte Dentalwerkstoffe wie die Dentinadhäsive mit den Wirtszellen des Pulpa-Dentin-Komplexes bzw. der Mundschleimhaut, wie auch mit den oralen Mikroorganismen in Kontakt treten. Trotz

dieser Tatsache, wurden bisher nur wenige Anstrengungen zur Analyse des Verhaltens von Zellen und Bakterien auf Bondingmaterialien unternommen. Des Weiteren weisen einige Studien darauf hin, dass lösliche Komponenten in Dentinadhäsiven vorhanden sind. Können diese Substanzen die Zellen und Mikroorganismen schädigen? Eine wachstumshemmende Wirkung auf kariesauslösende Keime wäre wünschenswert. Diese könnte zur Eliminierung resistenter Mikroorganismen bei der adhäsiven konservierenden und prothetischen Therapie genutzt werden. Einige Anbieter propagieren bereits die antibakteriellen Eigenschaften ihrer Adhäsive zur Kavitätendesinfektion. In dieser Untersuchung soll geklärt werden, ob und inwieweit eine mikrobielle Wachstumshemmung vorhanden ist. Weiterhin sollen die Reaktionen verschiedener Zellarten untersucht werden. Es ist zu veranschaulichen, ob Zellen oraler Gewebe durch die Bondingmaterialien positiv oder negativ beeinflusst werden. Dabei ist zu klären, ob Zusammenhänge zwischen den mikrobiellen und zellulären Reaktionen zu erkennen sind und die Ursachen erforscht werden. Mögliche Konsequenzen für den klinischen Gebrauch sollen erläutert werden. Diese Untersuchung soll bei der Auswahl des Dentinadhäsivsystems aus biologischen Gesichtspunkten helfen.

Zur definitiven Einschätzung dentaler Materialien in der klinischen Situation eignet sich jedoch nur die prospektive klinische Langzeitstudie (*Frankenberger et al. 2004*). Nur hier können alle intraoralen Einflüsse berücksichtigt werden. Problematisch ist allerdings die kurze Verweildauer vieler Produkte auf dem Dentalmarkt. Ergebnisse zeitaufwändiger klinischer Studien von wenigstens drei Jahren sind deshalb zum Zeitpunkt der Veröffentlichung oft schon wieder wertlos und lassen nur Spekulationen auf modifizierte „Folgepräparate“ zu. Deshalb ist eine präklinische In vitro-Untersuchung, wie sie in dieser Arbeit durchgeführt werden soll, für frühzeitige Aussagen und klinische Prognoseabschätzung unter dem Aspekt der Biokompatibilität in jedem Fall wertvoll (*Frankenberger et al. 2004*).

3. Ziele der Arbeit

Ziel dieser Untersuchung war es, die Einflüsse ausgewählter Dentinadhäsive auf Zellen und Mikroorganismen zu charakterisieren. Ein biologisch verträgliches Präparat sollte entweder keine Wirkung auf orale Gewebe und Mikromilieu besitzen oder nur antimikrobiell wirken. Die Untersuchung von Bondingmaterialien hinsichtlich ihrer Biokompatibilität sollte daher im Mittelpunkt stehen.

Die antibakteriellen Effekte einiger neuer Adhäsivsysteme werden heute als positive Eigenschaften von den Herstellern angepriesen. Ob diese keimreduzierenden Wirkungen bei Dentinadhäsiven vorhanden sind, sollte in dieser Arbeit analysiert werden. Außerdem war zu berücksichtigen, ob ein als biokompatibel geltendes Medizinprodukt in der Lage ist, neben dem mikrobiellen auch das zelluläre Milieu in Quantität und Qualität zu verändern. Es sollte untersucht werden, welche Parameter für die Wirkungen verantwortlich sind. Des Weiteren war zu klären, ob zwischen den Reaktionen der mikrobiologischen Systeme Zusammenhänge bestehen.

In mehreren In vitro-Untersuchungsreihen sollte die biologische Wirkung der Komponenten von Xeno[®] III, Syntac[®] Classic, AdheSE[®] sowie den Monomeren HEMA und TEGDMA erfasst werden. Nach Verdünnung der Materialien mit steriler, gepufferte Phosphatsalzlösung [PBS] wurden die Lösungen zum einen mit primären humanen Gingivafibroblasten und Pulpazellen wie auch mit verschiedenen Bakterien- und Pilzstämmen, welche als Durchgangs- bzw. Standortflora der Mundhöhle gelten, in Kontakt gebracht. Das Wachstumsverhalten unter Einfluss der Dentalstoffe sollte studiert werden. Vor allem die Wirkung löslicher Bestandteile aus den unpolymerisierten Werkstoffen war in diesem Zusammenhang zu klären.

In den Zelluntersuchungen sollte dabei das Stoffwechselverhalten der beiden Zellarten mit Hilfe eines spezifischen MTT-Nachweises untersucht und verglichen werden. Die Erfassung möglicher zellschädigender Komponenten stand hierbei im Vordergrund.

Anhand der mikrobiellen Untersuchung sollte außerdem das Wachstum verschiedener Monokulturen von Bakterien und Pilzen unter Einfluss der

Adhäsivmaterialien studiert werden. Vor allem die wachstumsfördernden und -hemmenden Reaktionen der Mikroorganismen waren zu erfassen.

Diese standardisierten Untersuchungen sollten durch ein komplexes In vitro-System ergänzt werden. An einem Zahnmodell wurden die Werkstoffe herstellergetreu appliziert. Anschließend sollte einer kariogenen Spezies und einer Mischflora die Möglichkeit gegeben werden, an die Zähne zu adhären. Durch die simulierte Plaqueanlagerung sollte den in vivo vorherrschenden Bedingungen entsprochen werden.

Es war zu diskutieren, inwieweit die untersuchten Materialien Zellen und Mikroorganismen beeinflussen und welche Zusammenhänge bestehen. Des Weiteren sollten die Ursachen erläutert werden. Es waren vor allem zellschädigende, antibakterielle und plaqueakkumulierende Eigenschaften zu bewerten. Der Einfluss chemischer Parameter der Dentinadhäsive - wie die Abgabe unreaktiver, löslicher Substanzen - sollte dabei berücksichtigt werden. Abschließend war zu klären, welche klinische Konsequenz aus den gefundenen Ergebnissen resultiert.

4. Methodik

4.1 Untersuchte Werkstoffe

In die Untersuchung wurden die in Tabelle 4 genannten Dentinadhäsive und Monomere einbezogen:

Tabelle 4: Charakteristika der verwendeten Präparate

Produktname	Hersteller	Klassifikation	Chargen-Nr.
Syntac® Classic: Syntac Primer Syntac Adhesive Heliobond	Ivoclar Vivadent AG, Schaan / Liechtenstein	Drei-Schritt-System nach Totalätzttechnik; (früher: dentinkond. Primer nach selektiver Schmelzätzung)	G 01297 F 68618 G 00840
AdheSE®: AdheSE Primer AdheSE Bonding	Ivoclar Vivadent AG, Schaan / Liechtenstein	selbstkonditionierendes Zwei-Schritt-System	F 24406, F 22515 F 24406, F 19615
Xeno® III:	DENTSPLY DeTrey GmbH, Konstanz	selbstkonditionierendes All-in-one-Adhäsivsystem	0305000034 0311000578
HEMA:	Firma Merck	Bestandteil handelsüblicher Primer und Adhäsive	4022536360447
TEGDMA:	Firma Fluka	Bestandteil handelsüblicher Primer und Adhäsive	RA 11763

Syntac® Classic

Syntac® Classic ist seit über zehn Jahren in der Praxis bewährt. Es stellt eines der wenigen Dentinadhäsive dar, zu denen erfolgreiche, klinische Langzeitstudien vorliegen. Es wird bei der restaurativen Therapie mit photo- und autopolymerisierende Kompositfüllungen verwendet und dient der Befestigung indirekter Keramikrestaurationen.

Tabelle 5: Zusammensetzung von Syntac® Classic (Ivoclar Vivadent 1998, Ivoclar Vivadent 2005b, Ivoclar Vivadent 2006b)

Komponente	Chemische Zusammensetzung	Gew.%	pH-Wert
Syntac® Primer	Tetraethylenglycoldimethacrylat	25,0	1,3
	Maleinsäure	4,0	
	Dimethylketon	41,0	
	Wasser	30,0	
Syntac® Adhesive	Polyethylenglycoldimethacrylat	35,0	4,0
	Maleinsäure	< 0,01	
	Glutaraldehyd	5,0	
	Wasser	55,0	

Nach Verwendung der Komponenten Syntac Primer und Syntac Adhesive muss in jedem Fall ein lichthärtender Haftvermittler benutzt werden, wobei der Hersteller das firmeneigene Heliobond® empfiehlt.

Heliobond®

Heliobond® wird zur Dentinhaftvermittlung und nach Total Etch auch zum Schmelzverbund angewendet. Außerdem dient es der Reparatur von Kunststoffarbeiten, Befestigung von Zahnschmuck und transparenten Versiegelung von Fissuren.

Tabelle 6: Zusammensetzung von Heliobond® (Ivoclar Vivadent 2005c)

Komponente	Chemische Zusammensetzung	Gew.%	pH-Wert
Heliobond®	Bis-GMA	60,0	~ 4,6
	Triethylenglycoldimethacrylat (TEGDMA)	40,0	

AdheSE®

AdheSE® besteht aus zwei Komponenten: dem selbstätzenden AdheSE Primer und dem AdheSE Bonding, welche ohne Phosphorsäureätzung verwendet werden. Es ist bei direkten Füllungen aus photopolymerisierenden Komposits indiziert.

Tabelle 7: Zusammensetzung von AdheSE® (Ivoclar Vivadent 2002, Ivoclar Vivadent 2004, Ivoclar Vivadent 2005a, Ivoclar Vivadent 2006a)

Komponente	Chemische Zusammensetzung	Gew.%	pH-Wert
AdheSE® Primer	Phosphonsäureacrylat	< 40	1,7
	Bis-Acrylsäureamid	k.A.	
	Wasser	k.A.	
	Initiatoren und Stabilisatoren	k.A.	
AdheSE® Bonding	Dimethacrylate	< 75	7,0
	Hydroxyethylmethacrylat (HEMA)	< 25	
	hochdisperses Siliciumdioxid	k.A.	
	Initiatoren und Stabilisatoren	k.A.	

Xeno® III

Xeno® III setzt sich aus zwei Komponenten: Flüssigkeit A und B zusammen. Die Flüssigkeiten werden vor Applikation im Verhältnis 1:1 („Spiegelei“-Bild) vermischt. Die Indikation dieses Produkts sind direkte Füllungen mit photopolymerisierenden Komposit bzw. Kompomer an Schmelz und Dentin ohne zusätzlichen Ätzworgang.

Tabelle 8: Zusammensetzung von Xeno® III (DENTSPLY DeTrey 2002, DENTSPLY DeTrey 2008a, DENTSPLY DeTrey 2008b)

Komponente	Chemische Zusammensetzung	Gew.%	pH-Wert
Flüssigkeit A (Universalflüssigkeit)	2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA)	25 - 50	< 1,0
	Ethanol	10 - 25	
	gereinigtes Wasser	k.A.	
	2,6-Di-Butylhydroxytoluol (BHT)	k.A.	
	Nanofüller (hochdisperses Siliciumdioxid)	k.A.	
Flüssigkeit B (Katalysatorflüssigkeit)	Tetramethacryloxyethylpyrophosphat (Pyro-EMA)	50 - 100	
	Pentamethacryloxyethylcyclophosphazenenmonofluorid (PEM-F)	k.A.	
	Urethandimethacrylat (UDMA)	2,5 - 10	
	2,6-Di-Butylhydroxytoluol (BHT)	k.A.	
	Campherchinon	k.A.	
	Dimethylaminoethylbenzoat (EPD)	k.A.	

HEMA, TEGDMA

HEMA und TEGDMA sind Monomere handelsüblicher Dentinadhäsive und Komposit. Sie stellen die polaren Gruppen in Adhäsiv- und Primerlösungen der Dentinadhäsive dar. Diese Monomere dienen der Haftvermittlung und Vernetzung. Das toxische Potenzial ist bereits aus anderen Untersuchungen bekannt. Sie wurden außerdem in Komposit-Eluaten nachgewiesen.

4.2. Versuchsdurchführung

4.2.1. Verdünnungsreihe der Werkstoffe

Die genannten Untersuchungsmaterialien lagen in flüssiger oder visköser Form vor und wurden in einer Zweierreihe unmittelbar vor Versuchsbeginn verdünnt. Als Lösungs- bzw. Verdünnungsmittel wurde gepufferte Phosphatsalzlösung [PBS] verwendet. Zur Verdünnung wurden 500 µl Werkstoff in 500 µl PBS-Lösung pipettiert und durch mehrfaches Ansaugen vermischt. Anschließend erfolgte eine erneute Verdünnung, indem von diesem Gemisch 500 µl entnommen und wiederum zu 500 µl PBS-Medium gegeben wurden. Jede weitere absteigende Konzentrationsstufe wurde auf dieselbe Weise hergestellt (1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64). Während des Experiments erfolgte durch die Zugabe von neun Teilen Nährmedium eine erneute Verdünnung (10fach) der werkstoffhaltigen Lösung (Tabelle 9). Die Monomere und Bondingkomponenten wurden je Verdünnungsstufe 3fach untersucht.

Tabelle 9: Vergleich der Verdünnungsverhältnisse bzw. der Konzentration der untersuchten Werkstoffe vor bzw. während der Versuche

Verdünnung (vor Versuch)	1 : 1	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
Konzentration [%] (vor Versuch)	100	50	25	12,5	6,25	3,13	1,56
Verdünnung (im Versuch)	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640
Konzentration [%] (im Versuch)	10	5	2,5	1,25	0,63	0,31	0,16

4.2.2. Untersuchung des Zellstoffwechsels

Zellkulturen:

Es wurden humane, primäre Gingivafibroblasten und Pulpazellen gesunder Patienten verwendet. Die Pulpazellen stammten von Weisheitszahnkeimen jugendlicher Patienten, die durch Germektomie steril gewonnen wurden. Nach Entnahme wurden die Zellen mit 10 ml Nährmedium Dulbecco's Modified Eagle's Medium [DMEM] mit 10 % fetalem Kälberserum [FCS] (Invitrogen) versetzt. Eine antibiotische Abschirmung unter 60 µg/ml Gentamicin und 100 IU/ml Penicillin G im Medium schützte vor unerwünschtem Keimbefall. Die Inkubation der Zellen in sterilen Kulturflaschen erfolgte während des gesamten Versuches bei 37 °C unter 95 % gesättigter Luftfeuchtigkeit und 5 % CO₂.

Die Nährbouillon wurde regelmäßig alle 2-3 d ausgewechselt. Die Kontrolle des Zellwachstums geschah unter dem Phasenkontrastmikroskop. War der Boden der Zellkulturflaschen mit einem dichten Zellbelag bewachsen, wurden die Zellen passagiert. Hierzu wurde das Nährmedium vorsichtig abpipettiert. Anschließend wurden 10 ml PBS zum Waschen in die Flasche gegeben, um die überschüssige Nährlösung zu entfernen. Außerdem wurde 1 ml Trypsin zum Ablösen der Zellen vom Untergrund zugegeben und die Flasche leicht geschwenkt. Nach einigen Minuten Inkubation im Brutschrank wurde die vollständige Ablösung der Zellen unter dem Mikroskop kontrolliert. Nachfolgend wurde 2 ml Nährlösung DMEM mit 10 % FCS in die Kulturflasche pipettiert und die gewonnene Zellsuspension in ein steriles Eppendorf-Gefäß umgefüllt. Anschließend wurden die Gefäße für 4 min bei 400 g zentrifugiert, um die festen und flüssigen Bestandteile zu trennen. Der flüssige Überstand wurde abgekippt und wiederum 2 ml Nährmedium DMEM mit 10 % FCS zu dem Zellsediment hinzu gegeben. Die passagierten Zellen wurden zum einen für die Versuche genutzt. Andererseits wurde je 1 ml der Zellsuspension mit 10 ml Nährbouillon DMEM mit 10 % FCS sowie 60 µg/ml Gentamicin und 100 IU/ml Penicillin G versetzt in sterilen Flaschen zum weiteren Wachstum inkubiert.

Untersuchung des Zellstoffwechsels:

Zur Erfassung möglicher zytotoxischer Effekte wurde ein modifizierter 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium-bromid [MTT] Nachweis durchgeführt. Durch Ermittlung der mitochondrialen Dehydrogenaseaktivität kann auf Vitalität und

Wachstum der Zellen schlussgefolgert werden. Die Dehydrogenasen der Zellen öffnen den Tetrazoliumring der gelben MTT-Lösung und ein blaues, alkohollösliches Formazan-Produkt entsteht (*Mosmann* 1983).

In die Vertiefungen steriler Mikrotitrationsplatten wurden zunächst je 200 µl der passagierten Zellsuspension pipettiert und diese für 2 d im Brutschrank inkubiert. Nachdem sich ein dichter Zellrasen am Boden der Vertiefungen entwickelt hatte (ca. 10^4 Zellen/Well), wurde das Nährmedium mit einer Mehrkanalpipette vorsichtig vom Rand her abgesaugt, um die Zellen nicht zu beschädigen. Um das verbliebene Nährmedium zu entfernen, wurden die Platten anschließend gewaschen. Dazu wurde je 200 µl PBS-Lösung in jede Vertiefung hineinpipettiert und wieder entfernt. Danach wurden jeweils 90 µl DMEM-Nährlösung ohne Zusatz hinzugegeben. Nach kurzer Inkubation der Mikrotitrationsplatten wurden je 10 µl Eluat von jeder Konzentration in die Vertiefungen gegeben und dokumentiert. In den Vertiefungen für die Wachstumskontrolle wurde kein Zusatz hinzugegeben, sondern nur das frische Nährmedium belassen.

	Werkstoff A			Werkstoff B			Werkstoff C			Werkstoff D		
1 : 10	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
1 : 20	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
1 : 40	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
1 : 80	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
1 : 160	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
1 : 320	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
1 : 640	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Kontrolle	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

Abbildung 1: Schema der verwendeten Mikrotitrationsplatten

Damit die untersuchten Materialien auf die Zellen, ihren Stoffwechsel und somit ihr Wachstum wirken konnten, wurden sie für 2 bzw. 18 h im Brutschrank inkubiert. Danach wurden die Gingivafibroblasten und Pulpazellen mit je 10 µl einer auf Tetrazolium basierenden 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromid [MTT]-Lösung (5 mg/ml PBS, Sigma) pro 100 µl Proben-Kulturmedium versetzt, welche vorher frisch hergestellt wurde. Dieser Ansatz verblieb wiederum für

4 h bei 37 °C zur Inkubation. Anschließend wurde das Medium durch Ausklopfen der Platten entfernt. Danach wurden je 20 µl einer 3 %igen SDS-Lösung (30 mg/ml Aqua dest., Pharmacia) und je 100 µl frisch angesetzte Lösung Isopropanol-0,04-N-HCl (20 ml Isopropanol mit 29 µl 1 mol HCl) in die Vertiefungen gegeben. Schließlich wurden die Platten unter gelegentlichem Schütteln nochmals 1 h bei 37 °C inkubiert, damit sich der Farbstoff gleichmäßig verteilen konnte. Das entstandene Formazan stellte sich visuell als bläulich-violetter Farbumschlag dar.

Die Auswertung erfolgte photometrisch bei einer Wellenlänge von 562 nm (SLT Rainbow). Für jede Probe (je drei ermittelte Werte) wurde der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet. Die Negativkontrolle errechnete sich aus den Extinktionen der unbehandelten Zellsuspensionen des gesamten Ansatzes je Versuch (je 24 ermittelte Werte).

4.2.3. Untersuchung des Bakterien-/Pilzwachstums

Für die Versuche wurden die Werkstoffe in den Verdünnungen 1:1, 1:4, 1:16 und 1:64 eingesetzt. Die Monomere und Komponenten der Bondingsysteme wurden mit drei Stichproben je Verdünnung und Mikroorganismus untersucht.

Mikroorganismen:

Verwendet wurden verschiedene Bakterien- bzw. Pilzstämmen aus der Stammsammlung des Institutes für Medizinische Mikrobiologie der FSU Jena: Monokulturen von *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, die obligat anaerob lebenden *Actinomyces viscosus* ATCC 15987 und *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, sowie der Hefepilz *Candida albicans* ATCC 76615. Die ruhenden Mikroorganismen wurden 24 h vor Versuchsbeginn auf entsprechende Kulturmedien überimpft und bei 37 °C kultiviert. Die anaeroben Bakterien und die *Candida* sp. wurden auf Grund verlängerter Generationszeiten für 48 h inkubiert. Damit sollte ein schneller Übergang der Subkulturen in die exponentielle Wachstumsphase erreicht werden. Für die Untersuchungen wurde das Keimmaterial anschließend mittels steriler Wattestäbchen in 5 ml keimspezifische Nährbouillon (Tabelle 10) gegeben und für 24 bzw. 48 h bei 37 °C inkubiert. Auf Grund unterschiedlicher Anforderungen an das

umgebende Milieu erfolgte die Kultivierung und Inkubation der Testkeime z.T. unter anaeroben Bedingungen.

Tabelle 10: Spezifische Charakteristika der Monokulturen

Spezies	Katalogisierung	Kultivierung	feste Kulturmedien	flüssige Kulturmedien
Streptococcus mutans	ATCC 25175	aerob	Columbia-Agar + Schafblut	Dextrose-Bouillon
Streptococcus sanguinis	ATCC 10556	aerob	Columbia-Agar + Schafblut	Dextrose-Bouillon
Enterococcus faecalis	ATCC 29212	aerob	Columbia-Agar + Schafblut	Dextrose-Bouillon
Actinomyces viscosus	ATCC 15987	anaerob	Schaedler-Agar	Schaedler-Bouillon
Porphyromonas gingivalis	ATCC 33277	anaerob	Schaedler-Agar	Schaedler-Bouillon + Schafblut
Candida albicans	ATCC 76615	aerob	Sabouraud-Agar	Sabouraud-Nährmedium

Untersuchung des Keimwachstums:

Jeweils 100 µl der hergestellten Keimsuspension wurden mit 1800 µl frischer, spezifischer Nährlösung (Tabelle 10) und 200 µl Werkstoffverdünnung versetzt. Die Negativkontrolle wurde zu je 3 Stichproben aus 100 µl Keimlösung und 1800 µl Nährbouillon hergestellt. Danach erfolgte eine Inkubation der Ansätze für 6 h im Brutschrank bei 37 °C und 5 % CO₂. Die Anaerobier und Sprosspilze wurden auf Grund längerer Generationszeiten für 12 h inkubiert. Bei obligat anaeroben Bakterien erfolgte die Kultivierung unter Ausschluss von Sauerstoffzutritt mit Hilfe von AnaeroGen (Oxoid). Anschließend wurden die entsprechenden Nährböden (Tabelle 10) mit je 10 µl der Flüssigkultur beimpft, welche wieder für 24 h (Aerobier) bzw. 48 h (Anaerobier, Sprosspilz) bei 37 °C inkubiert wurden. Teilweise erfolgte vor dem Aufbringen eine Verdünnung der Flüssigkultur im Verhältnis 1:100 mit PBS.

Die Anzahl gewachsener Bakterienkolonien (KBE = koloniebildene Einheiten) auf den Kulturplatten wurde durch Auszählung bestimmt. Unter Einbeziehung der Verdünnungsverhältnisse jedes Ansatzes wurden die Werte ermittelt, in den

dekadischen Logarithmus gesetzt und daraus der Mittelwert bzw. die Streubreite errechnet. Die Werte der Negativkontrolle wurden ebenso ermittelt.

4.2.4. Untersuchung bakterieller Adhäsion am Zahnmodell

Für diese Untersuchung wurden die Dentinadhäsivsysteme Xeno III und Syntac Classic in den Verdünnungen 1:1, 1:4, 1:16 und 1:64 eingesetzt. Die Bondingmaterialien wurden 5fach je Verdünnung untersucht.

Mikroorganismen:

Die Bakterienstämme (Tabelle 11) stammten aus der Stammsammlung des Institutes für Medizinische Mikrobiologie der FSU Jena: Verwendet wurden *S. mutans* ATCC 25175 und eine Mischkultur aus den Referenzstämmen *A. viscosus* ATCC 15987 und *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 sowie den klinischen Isolaten *S. sanguinis* J 108/02 und *Porphyromonas gingivalis* D 5-2-2. Auf Grund von antagonistischen Eigenschaften zwischen den Referenzstämmen musste teilweise auf klinische Isolate zurückgegriffen werden (*Duda* 2005).

Tabelle 11: Spezifische Charakteristika der Monokultur *S. mutans* bzw. der Mischkultur

Spezies	Katalogisierung	Kultivierung	feste Kulturmedien	flüssige Kulturmedien
Streptococcus mutans	ATCC 25175	aerob	Columbia-Agar + Schafblut	Dextrose-Bouillon
Streptococcus sanguinis	J 108/02	aerob	Columbia-Agar + Schafblut	Schaedler-Bouillon
Actinomyces viscosus	ATCC 15987	anaerob	Schaedler-Agar	Schaedler-Bouillon + Schafblut + Vitamin K
Fusobacterium nucleatum	ATCC 25586	anaerob	Schaedler-Agar + Vancomycin	Schaedler-Bouillon + Schafblut + Vitamin K
Porphyromonas gingivalis	D 5-2-2	anaerob	Schaedler-Agar + Kanamycin	Schaedler-Bouillon + Schafblut + Vitamin K

Die ruhenden Mikroorganismen wurden 24 h vor Versuchsbeginn auf entsprechende Kulturmedien überimpft und bei 37 °C kultiviert. Die anaeroben Bakterien wurden auf Grund verlängerter Generationszeiten für 48 h inkubiert. Auf Grund unterschiedlicher Anforderungen an das umgebende Milieu, erfolgte die Kultivierung und Inkubation der Testkeime z.T. unter anaeroben Bedingungen.

Zahnmodell:

Verwendet wurden frisch osteotomierte humane, dritte Molaren verwendet. Sie wurden in steriler, physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt. Die Zähne hatten noch keinen Kontakt mit der Mundhöhle, um eine bakterielle Kontamination und Kariesläsionen auszuschließen. Nach Entfernung von Geweberesten und Reinigung der Zähne wurde an der mesialen und distalen Fläche jedes Zahnes mit einem zylindrischen Diamanten (Ø 2 mm) eine 2 mm tiefe Schmelz-Dentin-Kavität geschaffen. An den Wurzeln der Zähne wurden Edelstahldrähte befestigt. Dies war notwendig, weil der Zahn während des Versuches in verschiedene Flüssigkeiten getaucht werden musste. Dazu wurden sterile Reagenzgläser verwendet, die mit Papierkorken möglichst dicht verschlossen wurden. Das Zahnmodell sollte einerseits nicht berührt und außerdem ein allseitiger Kontakt mit dem umgebenden Medium erreicht werden. Für jede Untersuchung wurden fünf humane Weisheitszähne verwendet.

Untersuchung bakterieller Adhäsion:

Die präparierten Zähne wurden zu Beginn 15 min in je 5 ml 70 %igem Alkohol gelagert, um eventuell vorhandene Keime abzutöten. Anschließend wurden die Weisheitszähne für 15 - 30 min in 5 ml sterile, physiologische Kochsalzlösung getaucht, um den Alkohol wieder zu entfernen. Nun wurden die Dentinadhäsivsysteme Xeno III und Syntac Classic herstellergetreu appliziert und polymerisiert. Pro Zahn wurde je eine Kavität mit Xeno III und Syntac Classic benetzt. Das System von Syntac Classic wird nach dem Totalätzverfahren angewendet. Nach vollständiger Schmelz-Dentin-Ätzung mit 37 %iger Orthophosphorsäure (Voco) wurde diese mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Xeno III als ein selbstätzendes System benötigte diesen Arbeitsschritt nicht.

In den Versuchen mit der Monokultur *S. mutans* ATCC 25175 wurden die Zähne danach 15 min in synthetischem Speichel (Tabelle 10) belassen. Dieser enthielt Muzin Typ II, welches als Adhäsionsfaktor für die Bakterien elementar ist. Der künstliche Speichel bildet die Grundvoraussetzung für die Ausbildung einer Pellicula dentis, durch welche eine Plaqueanlagerung erst möglich wird.

Tabelle 12: Rezeptur des synthetischen Speichels (Böning 1987)

4,0 g	Muzin
1,2 g	Kaliumchlorid
1,2 g	Natriumhydrogencarbonat
0,34 g	Dikaliumhydrogenphosphat
0,1 g	Kaliumthiocyanat
0,05 g	Magnesiumchloridhexahydrat
0,15 g	Calciumchloriddihydrat
0,3 g	Harnstoff
0,05 g	Harnsäure
1000 ml	Aqua dest.

Anschließend wurden die Zähne in je 5 ml Dextrose-Bouillon gegeben, welche mit 0,1 ml Keimsuspension von *S. mutans* ATCC 25175 versetzt wurde. Es erfolgte die Inkubation dieser Flüssigkultur für 6 h bei 37 °C im Brutschrank. Danach wurden die Zähne aus der Nährlösung entnommen und in sterile, isotonische Kochsalzlösung getaucht um loses Material zu entfernen. Mit sterilen Exkavatoren und Wattepellets wurde die Kavität ausgeschabt und gesäubert. Das hierbei gewonnene Material wurde in je 2 ml Kochsalzlösung gegeben. Diese wurde kurz mit einem Vortex-Gerät aufgeschüttelt. Je 10 µl wurden auf feste Blutagarplatten zur Bestimmung der KBE ausplattiert. Teilweise erfolgte eine weitere Verdünnung mit PBS. Die Kulturplatten wurden nun für 24 h bei 37 °C inkubiert.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde eine Plaqueanlagerung mit einer Mischkultur simuliert (Tabelle 13). Zunächst wurden die Zähne 1 h in künstlichen Speichel getaucht, danach für 1 h mit je 2 ml Flüssigkultur von *S. sanguinis* J 108/02 inkubiert. Um das Wachstum der Streptokokken etwas zu verringern, wurden die Zähne anschließend 15 min in eine Kanamycin-Lösung getaucht (100 µg Kanamycin / 100 ml Aqua dest.) und diese mit PBS wieder entfernt. Als nächstes wurden die

behandelten Weisheitszähne 1 h mit je 2 ml Flüssigkultur von *A. viscosus* ATCC 15987 und *F. nucleatum* ATCC 25586 inkubiert (Verhältnis A.v. : F.n. = 5 : 4). Danach wurden 2 ml Flüssigkultur von *P. gingivalis* D 5-2-2 zugegeben. Die Inkubation erfolgte anaerob über 18 h mittels AnaeroGen bei 37 °C.

Tabelle 13: Schematische Darstellung des experimentellen Ansatzes der Mischkultur (10 ml)

Spezies	flüssiges Kulturmedium	festes Kulturmedium
S. sanguinis J 108/02	10 ml gepufferte Schaedler-Bouillon	Columbia-Agar + Schafblut
A. viscosus ATCC 15987	5 ml gepufferte Schaedler-Bouillon 0,25 ml Schafblut 5,25 µl Vit. K (Konaktion MM 10 mg; Firma Roche)	Schaedler-Agar
F. nucleatum ATCC 25586	5 ml gepufferte Schaedler-Bouillon 0,44 ml Schafblut 5,44 µl Vit. K (Konaktion MM 10 mg; Firma Roche)	Schaedler-Agar + Vancomycin
P. gingivalis D 5-2-2	10 ml gepufferte Schaedler-Bouillon 1 ml Schafblut 11 µl Vit. K (Konaktion MM 10 mg; Firma Roche)	Schaedler-Agar + Kanamycin

Nachfolgend wurden die Kavitäten ebenfalls ausgeschabt und das entnommene Material in je 2 ml isotonische Kochsalzlösung gegeben. Diese Suspensionen wurden kurz aufgeschüttelt und jeweils 10 µl auf je 4 spezifischen Nährböden überimpft und z.T. zusätzlich mit PBS verdünnt. Die Bakterien auf den Kulturplatten wurden unter teilweise anaeroben Bedingungen für 48 h kultiviert.

Die Anzahl gewachsener Bakterienkolonien (KBE) auf den Kulturplatten wurde durch Auszählung bestimmt. Unter Einbeziehung der Verdünnungsverhältnisse jedes Ansatzes wurden die Werte ermittelt, in den dekadischen Logarithmus gesetzt und daraus der Mittelwert bzw. die Streubreite errechnet.

4.2.5. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Vorbereitung der Zahnmodelle:

Die Zähne wurden wie für die Untersuchung der bakteriellen Adhäsion vorbereitet. Allerdings wurden sie in zwei Hälften mit je einer Kavität geteilt. Die anschließende Applikation der Dentinadhäsive und Inkubation mit Bakterienkulturen wurde auf dieselbe Weise durchgeführt, wie bereits im Versuchsablauf der Bakterienadhäsion an Zahnmodellen beschrieben. Nach Inkubation mit den Keimkulturen wurde jedoch kein Material aus den Kavitäten entnommen. Stattdessen wurden die vorbehandelten Zahnhälften in die Vertiefungen einer Gewebepalette gelegt. Sie wurden 5 min in je 1 ml einer 2,5 %igen Glutaraldehyd-Lösung fixiert. Nach Absaugen der Lösung wurden je 1,5 ml Cacodylatpuffer (0,1 M, pH-Wert 7,2) für 7 min zugegeben und wieder entfernt. Dieser Vorgang wurde dreimal durchgeführt. Danach wurden für jeweils 10 - 15 min mehrere Konzentrationsstufen einer aufsteigenden alkoholischen Reihe hinzu gegeben (30 % / 50 % / 60 % / 70 % / 80 % / 90 %) und wieder abpipettiert. Begonnen wurde mit je 2 ml 30 %igem Alkohol bis schließlich reiner Alkohol die Zahnhälften bedeckte. Dieser wurde zum Schutz belassen und die Proben zur weiteren Verarbeitung in das Institut für Pathologie, Elektronenmikroskopisches Zentrum, gebracht.

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung:

Die fixierten Probekörper wurden im Exsikkator getrocknet und mit Gold besputtert. Für die Rasterelektronenmikroskopie stand das Gerät LEO 1450 VP (Zeiss) zur Verfügung. Die Untersuchung der mikrostrukturellen Gegebenheiten erfolgte bei 250.000facher Vergrößerung.

4.3 Statistische Auswertung

Zur statistischen Analyse wurde der t-Test nach Student durchgeführt. Dabei wurden die Mittelwerte der einzelnen Komponenten je Verdünnung mit der Kontrolle verglichen (MTT-Nachweis und Wachstum der Mikroorganismen). Bei den Untersuchungen zur bakteriellen Adhäsion erfolgte ein Vergleich der beiden Bondingwerkstoffe. Die Irrtumswahrscheinlichkeit betrug 5 % ($p < 0,05$).

5. Ergebnisse

5.1. Zelluläre Reaktionen

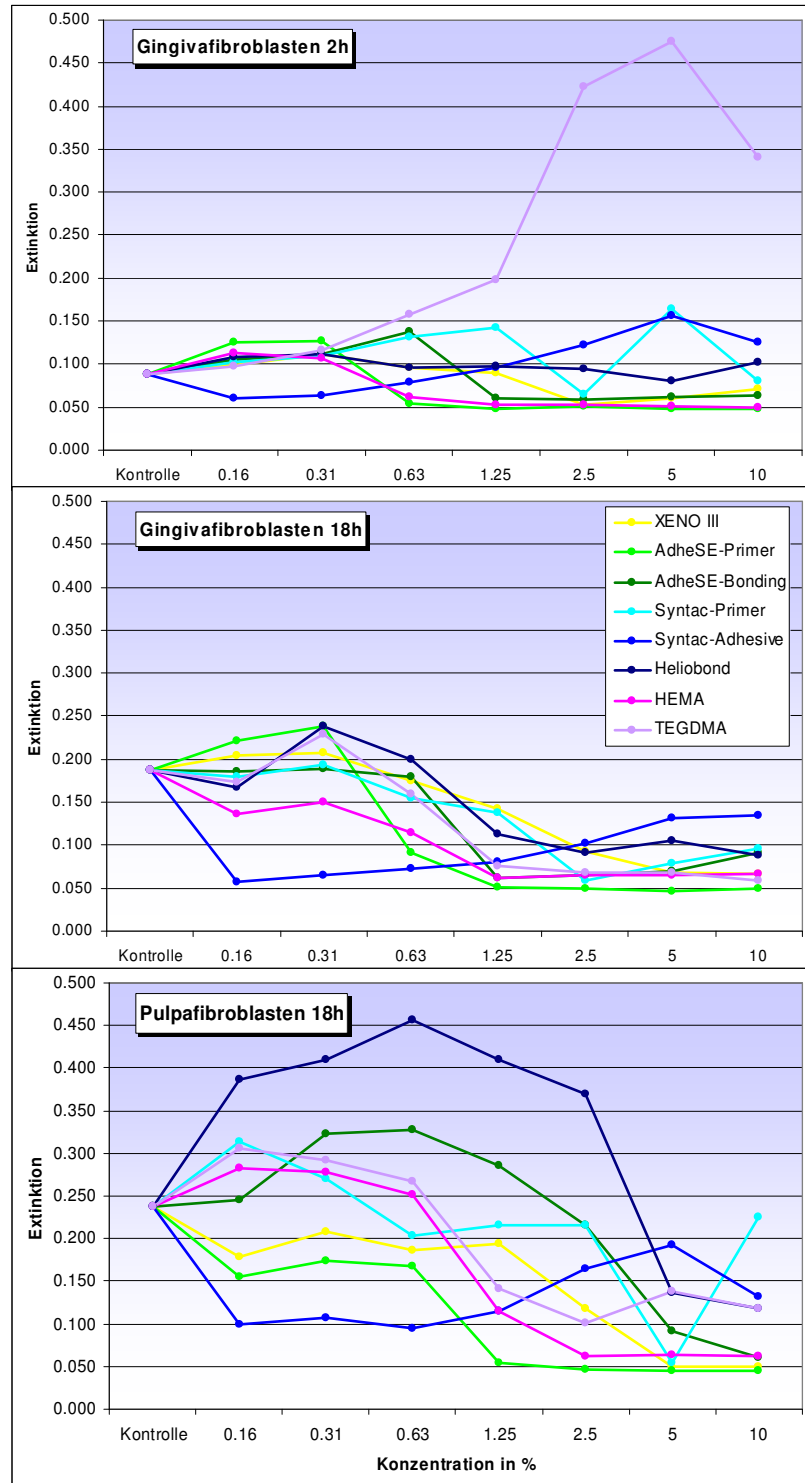


Abbildung 2: Wirkung verschiedener Dentinadhäsive und ihrer Komponenten auf humane Gingivafibroblasten und Pulpafibroblasten

Abbildung 2 verdeutlicht die photometrisch erfasste mitochondriale Dehydrogenaseaktivität von Gingivafibroblasten und Pulpazellen. Auf der Abzisse sind die ermittelten Extinktionen aufgetragen. Die Ordinatenachse gibt die Konzentration der zugegebenen Werkstofflösung an.

Niedrige Extinktionen deuten auf eine Schädigung der Zellen hin. Höhere Werte im Vergleich zur Kontrollkultur machen auf eine Stressreaktion aufmerksam. Dieser zelluläre Stress ist häufig als Vorbote für zeitlich versetzte zytotoxische Erscheinungen anzusehen.

Das selbstätzende All-in-one Dentinadhäsiv Xeno III führte nach einer Einwirkzeit von 2 h ab einer Konzentration von 2,5 % signifikant zu einer Unterdrückung des Zellstoffwechsels ($p < 0,05$). Diese Stoffwechselhemmung verstärkte sich bei längerer Applikation des Materials auf die Gingivafibroblasten. Nach 18 h Zellkontakt wirkte Xeno III bereits ab 1,25 % signifikant hemmend auf die Zellaktivität ($p < 0,05$). Die weitere Zunahme der Konzentration verstärkte die Aktivitätsabnahme. Geringere Konzentrationsspiegel beeinflussten die Fibroblasten hingegen nicht in ihrem Stoffwechselgeschehen. Die graphisch dargestellten leichten Stressreaktionen waren nicht signifikant. Bei Pulpafibroblasten bewirkte Xeno III in allen untersuchten Konzentrationsstufen konzentrationsabhängig eine Minderung der Stoffwechselaktivität. Diese Aktivitätsabnahme erwies sich jedoch nur in Konzentrationen ab 2,5 % als signifikant ($p < 0,05$).

Der selbstätzende AdheSE Primer des AdheSE Systems fiel bei Konzentrationen ab 0,63 % mit einer relativ konstanten und sehr starken Hemmung der Zellaktivität der Gingivafibroblasten und Pulpazellen unabhängig von der Applikationsdauer auf ($p < 0,01$). Unterhalb dieser Konzentration resultierte bei den Gingivazellen eine signifikante Erhöhung der Zellaktivität verbunden mit zellulärem Stress. Die Aktivität der Pulpazellen wurde in allen Konzentrationen durch diesen Werkstoff gehemmt. Die Hemmung konnte in Konzentrationen ab 1,25 % statistisch belegt werden ($p < 0,01$).

Die Komponente AdheSE Bonding wies ebenfalls eine statistisch gesicherte, konstante Stoffwechselbeeinträchtigung der Gingivafibroblasten unabhängig von der Einwirkzeit ab einer Konzentration von 1,25 % auf ($p < 0,01$). Niedrigere

Konzentrationen der Werkstofflösungen beeinflussten den Stoffwechsel der Gingivafibroblasten hingegen nicht. Bei kurzzeitiger Applikation des Untersuchungsmaterials war bei einer Konzentration von 0,63 % eine Stressreaktion erkennbar ($p < 0,01$). Bei den Pulpazellen stimulierte AdheSE Bonding vorwiegend die Zellaktivität, wobei dieser zelluläre Stress nur für die Konzentrationen 0,63 % und 1,25 % statistisch belegt werden kann ($p < 0,05$). Konzentrationen ab 5 % führten zu einer signifikanten Hemmung des Zellstoffwechsels ($p < 0,01$).

Syntac Primer als ein Bestandteil des Syntac Classic führte bei kurzzeitiger Applikation in geringen Konzentrationen zu Stressreaktionen der Fibroblasten bei 0,63 % und 1,25 % ($p < 0,01$). Konzentrationen von 1,25 % bzw. 2,5 % zeigten signifikante supprimierende, eine Konzentration von 5 % stimulatorische Effekte. Längerer Fibroblastenkontakt von 18 h führte erst ab einer Konzentration von 0,63 % zu einer abnehmenden Zellaktivität ($p < 0,05$). Werkstofflösungen von 5 % und 10 % führten hingegen zu einem statistisch belegbaren Anstieg des Zellstoffwechsels. Im Kontakt mit Pulpazellen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Nur die starke Aktivitätshemmung bei einer 5 %igen Werkstofflösung war statistisch nachweisbar.

Syntac Adhesive als weitere Komponente des Syntac Classic hemmte bei kurzzeitiger Einwirkung in Konzentrationen von 0,16 % und 0,31 % den Zellstoffwechsel der Gingivafibroblasten erheblich ($p < 0,01$). Mit zunehmender Konzentration der Werkstofflösungen nahm jedoch die Aktivität der Zellen zu. Konzentrationen ab 2,5 % bewirkten sogar signifikant zellulären Stress ($p < 0,01$). Längerer Gingivazellkontakt wies vergleichbare Zellreaktionen nach ($p < 0,01$). In allen Konzentrationen war der Zellstoffwechsel jedoch reduziert, nahm aber konzentrationsabhängig ebenfalls zu. Bei den Pulpazellen hemmten Konzentrationen bis 1,25 % und bei 10 % den Zellstoffwechsel signifikant ($p < 0,05$). Die übrigen Werkstofflösungen steigerten die Stoffwechselaktivität, was statistisch nicht belegt werden konnte. Bei diesem Material war auffällig, dass bei beiden Zelllinien die Aktivität mit zunehmender Konzentration anstieg.

Die Haftkomponente Heliobond wies bei Zellkontakt über 2 h kaum Einflüsse auf die Stoffwechselforgänge der Gingivafibroblasten auf. Eine längere Einwirkzeit über 18 h führte jedoch zu unterschiedlichen Reaktionen der Zellen. Konzentrationen von 0,31 % bewirkten eine Stressreaktion der Fibroblasten ($p < 0,05$). Konzentrationen

oberhalb von 0,63 % hemmten den Zellstoffwechsel relativ konstant ($p < 0,01$), jedoch geringer als bei den anderen Materialien. Im Kontakt mit den Pulpazellen bewirkte Heliobond hingegen signifikant starke zelluläre Stressreaktionen ($p < 0,01$). Nur hohe Konzentrationen ab etwa 5 % hemmten tendenziell die Zellaktivität.

Das Monomer HEMA stimulierte in sehr niedrigen Konzentrationen die Fibroblastenaktivität nach 2 h Kontakt ($p < 0,05$). Konzentrationen von 0,63 % und höher hemmten hingegen konstant den Zellstoffwechsel signifikant ($p < 0,01$). Eine längere Einwirkzeit dieses Dimethacrylats unterdrückte statistisch nachgewiesen in allen getesteten Konzentrationsstufen die mitochondriale Aktivität ($p < 0,05$). Die Stoffwechselvorgänge der Gingivafibroblasten wurden konzentrationsabhängig gehemmt. Pulpazellen wurden durch niedrige Konzentrationen dieser Substanz nicht signifikant beeinflusst. Konzentrationen größer 0,63 % verminderten hingegen die Zellaktivität konzentrationsabhängig ($p < 0,05$).

Das Dimethacrylat TEGDMA bewirkte in Abhängigkeit von der Konzentration bei kurzen Kontaktzeiten signifikante Stressreaktionen der Gingivazellen ab 0,31 % ($p < 0,05$). Die Zellaktivität nahm umso mehr zu, je höher die Konzentration des Monomers war und nahm nur bei unverdünnter Zugabe leicht ab. Nach längerer Einwirkung des Monomers wurde die Aktivität der Gingivafibroblasten ab einer Konzentration von 1,25 % signifikant gehemmt ($p < 0,01$). Pulpazellen zeigten bei Zugabe niedriger Konzentrationen keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle. Ab einer 1,25 %igen Konzentration wurde die Zellaktivität der Pulpazellen in Abhängigkeit von der Konzentration gesenkt ($p < 0,05$).

Im Allgemeinen reduzierten alle getesteten Materialien die Zellaktivität der Gingivafibroblasten, wobei die größte Toxizität bei AdheSE Primer und HEMA vorlag. Auf die Pulpafibroblasten wirkten alle Produkte und Monomere erst in höheren Konzentrationen zellschädigend. Im Vergleich mit den Gingivazellen zeigten sich ausgeprägtere Stressreaktionen. Am stärksten wurden die Pulpafibroblasten durch AdheSE Primer und HEMA gehemmt. Heliobond wies vergleichsweise die geringsten Einflüsse auf die Zellen auf.

5.2. Einflüsse auf das mikrobielle Wachstum

Die Abbildung 3 - 7 zeigen die unterschiedlichen Wirkungen der Dentinadhäsivkomponenten und Monomere auf die untersuchten Mikroorganismen. Auf der Abzisse sind die ermittelten KBE logarithmisch aufgetragen. Die Ordinatenachse gibt die Konzentration der zugegebenen Werkstofflösung an.

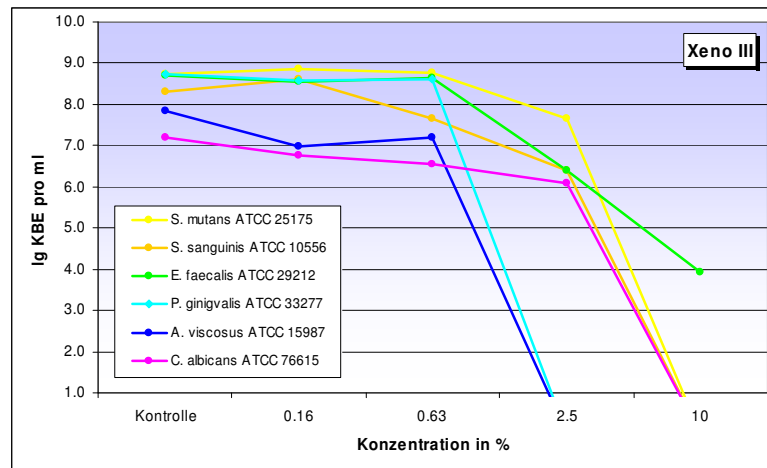


Abbildung 3: Wirkung von Xeno III auf verschiedene mikrobielle Spezies

Xeno III beeinflusste in niedrigen Konzentrationen das Keimwachstum nicht. Erst Konzentrationen größer 0,63 % zeigten signifikante, antimikrobielle Wirkungen ($p < 0,01$). Die Werkstofflösungen wurden von *E. faecalis* ATCC 29212 am besten toleriert. Bei Konzentrationen von 2,5 % in der Bakterienlösung fanden sich erste signifikante, negative Wachstumseinflüsse, welche mit steigender Konzentration zunahm ($p < 0,01$). *S. mutans* ATCC 25175 wurde erst ab Konzentrationen von 2,5 % signifikant in seinem Wachstum unterdrückt ($p < 0,01$), eine Konzentration von 10 % führte zum Absterben der Monokultur. *S. sanguinis* ATCC 10556 wurde bereits ab einer 0,63 %igen Substanzkonzentration in seiner Anzahl reduziert ($p < 0,01$) und reagierte ansonsten etwas empfindlicher als *S. mutans* ATCC 25175. *C. albicans* ATCC 76615 zeigte in allen Materialkonzentrationen signifikante wachstumshemmende Reaktionen ($p < 0,05$). Eine 10 %ige Konzentration führte zum Absterben der Population. Die anaeroben Bakterien wurden schon durch niedrigere Konzentrationen um 2,5 % vollständig in ihrem Wachstum inhibiert ($p < 0,01$). Stärkere Verdünnungen beeinflussten *P. gingivalis* ATCC 33277 hingegen nicht, lediglich bei *A. viscosus* ATCC 15987 wurden die KBE statistisch gesichert reduziert ($p < 0,01$).

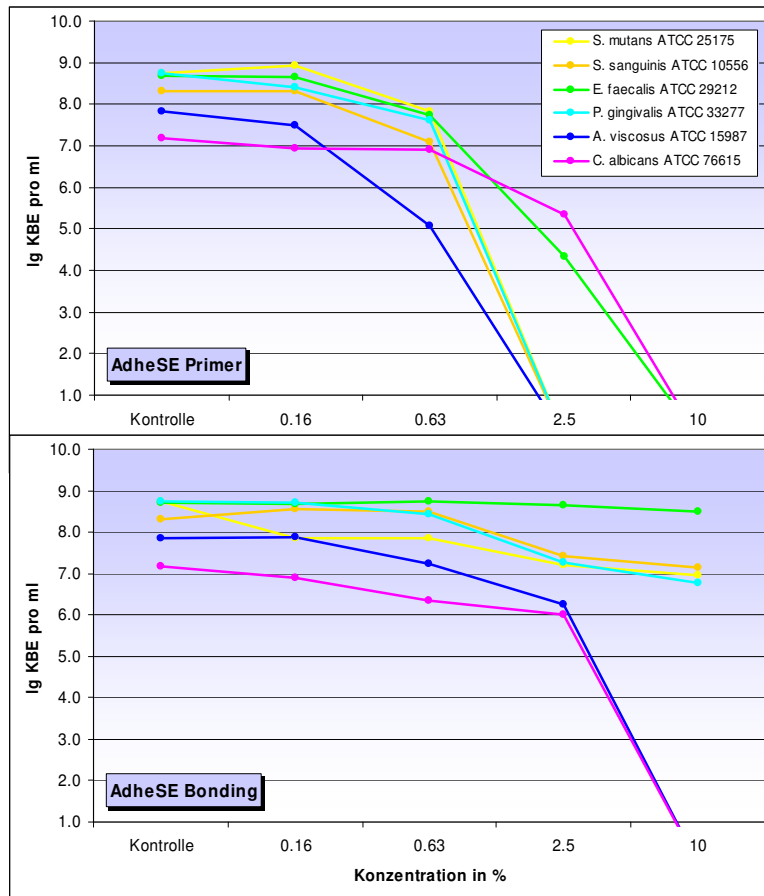


Abbildung 4: Wirkung von AdheSE auf verschiedene Mikroorganismen

Der selbstätzende AdheSE Primer führte bei Konzentrationen um 0,63 % und höher zu signifikanten antimikrobiellen Effekten. *E. faecalis* ATCC 29212 zeigte mit ansteigender Konzentration eine zunehmende Unterdrückung seines Wachstums. Unverdünnte Zugabe des Primers in die Bakterienlösung verursachte eine vollständige Inhibierung der Population ($p < 0,01$). Die oralen Streptokokken wurden in Substanzkonzentrationen über 0,16 % stark in ihrem Wachstum unterdrückt und waren ab Konzentrationen von 2,5 % nicht mehr nachweisbar ($p < 0,01$). Ebenso verhielt es sich bei *P. gingivalis* ATCC 33277 ($p < 0,01$). Die stärksten antibakteriellen Wirkungen des AdheSE Primers zeigten sich bei *A. viscosus* ATCC 15987. Dieser Bakterienstamm wurde selbst durch hohe Verdünnungen signifikant in seinem Wachstum beeinträchtigt ($p < 0,05$). *C. albicans* ATCC 76615 wurde durch den Primer nur gering in seiner Vermehrung gehemmt. Der Sprosspilz wies erst in Konzentrationen ab 2,5 % eine statistisch nachweisbare Reduktion der KBE auf ($p < 0,01$). Eine unverdünnte Applikation des Materials (Konzentration 10 %) in das Nährmedium tötete die Kultur.

AdheSE Bonding bewirkte im Allgemeinen geringere antibakterielle Effekte als AdheSE Primer. *E. faecalis* ATCC 29212 zeigte unabhängig von der Konzentration keine erfassbaren Unterschiede. Konzentrationen des Werkstoffes ab 0,63 % in der Lösung führten bei *P. gingivalis* ATCC 33277 und *S. sanguinis* ATCC 10556 zu einer konzentrationsabhängigen Verringerung der KBE ($p < 0,05$). *S. mutans* ATCC 25175 wurde in allen Konzentrationen signifikant gering in seinem Wachstum unterdrückt ($p < 0,01$). Am stärksten wurden *C. albicans* ATCC 76615 und *A. viscosus* ATCC 15987 gehemmt. Ab einer Konzentration von 2,5 % war eine signifikante, konzentrationsabhängige Wachstumshemmung bis zur vollständigen Inhibition bei unverdünnter Applikation (Konzentration 10 %) zu finden ($p < 0,01$).

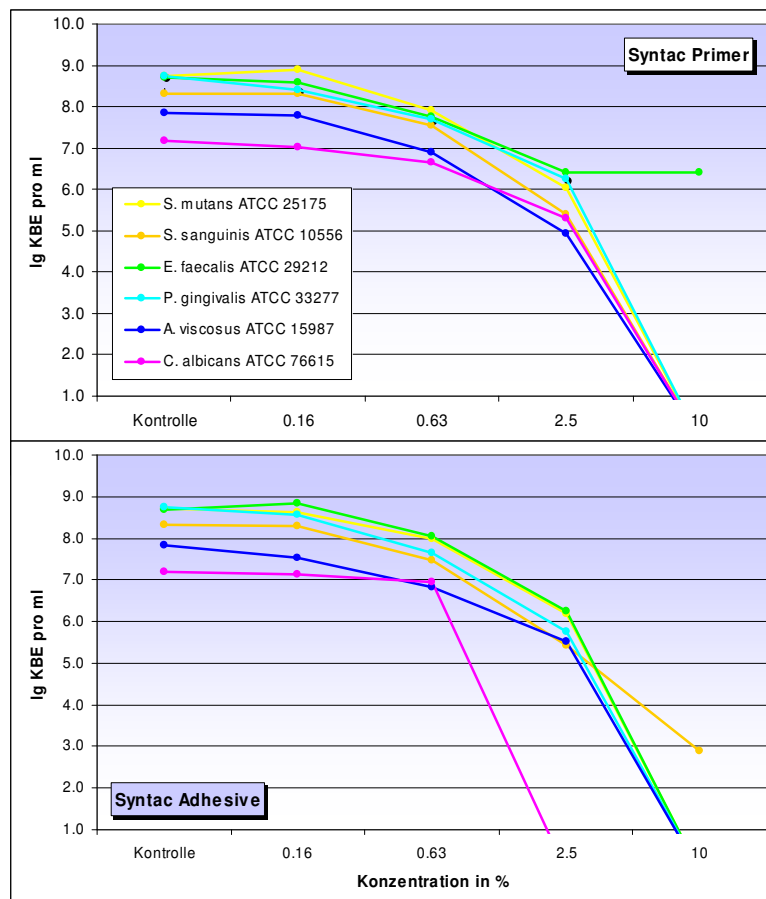


Abbildung 5: Wirkung von Syntac Classic auf verschiedene Mikroorganismen

Syntac Primer zeigte bei allen Mikroorganismen eine deutliche antibakterielle Wirkung. *E. faecalis* ATCC 29212 führte in Konzentrationen ab 0,63 % im Medium zu einer konzentrationsabhängigen Hemmung des Bakterienwachstums ($p < 0,01$). Die oralen Streptokokken wurden ebenfalls ab einer Substanzkonzentration von 0,63 %

signifikant inhibiert ($p < 0,01$). Der dentinkonditionierende Primer verursachte jedoch eine stärkere Unterdrückung des Streptokokkenwachstums im Vergleich zu den Enterokokken und führte bei unverdünnter Zugabe (Konzentration 10 % in der Bakterienlösung) zu einer vollständigen Unterdrückung der Population. Die Anzahl KBE der anaeroben *P. gingivalis* ATCC 33277 und *A. viscosus* ATCC 15987 wurde indirekt proportional zur Konzentration stark reduziert ($p < 0,01$). Eine unverdünnte Applikation des Materials in die Nährbouillon führte zum Absterben der Spezies. *C. albicans* ATCC 76615 verhielt sich ähnlich wie die Anaerobier ($p < 0,05$), wurde jedoch in niedrigeren Konzentrationen nicht so stark gehemmt.

Syntac Adhesive wies ab 0,63 % signifikant stark antibakterielle Eigenschaften wie der Primer auf ($p < 0,01$). Bei Enterokokken und *S. mutans* ATCC 25175 nahm mit ansteigender Konzentration die Wachstumsrate deutlich ab ($p < 0,01$). Bei einer Substanzkonzentration von 10 % waren keine Erreger mehr nachweisbar. *S. sanguinis* ATCC 10556 wies ähnliche Reaktionen auf, wurde jedoch schwächer durch das Adhäsiv alteriert und zeigte keine vollständige Unterdrückung der Population ($p < 0,01$). Die anaeroben Bakterien, vor allem *A. viscosus* ATCC 15987, wurden stärker in ihrem Wachstum gehemmt ($p < 0,01$). Die konzentrationsabhängige Abnahme der Erregerzahl war etwas stärker als bei den Streptokokkenstämmen. *C. albicans* ATCC 76615 wurde am meisten inhibiert. Konzentrationen von 2,5 % und höher hemmten das Pilzwachstum vollständig ($p < 0,01$), bei niedrigeren Konzentrationen fanden sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrolle.

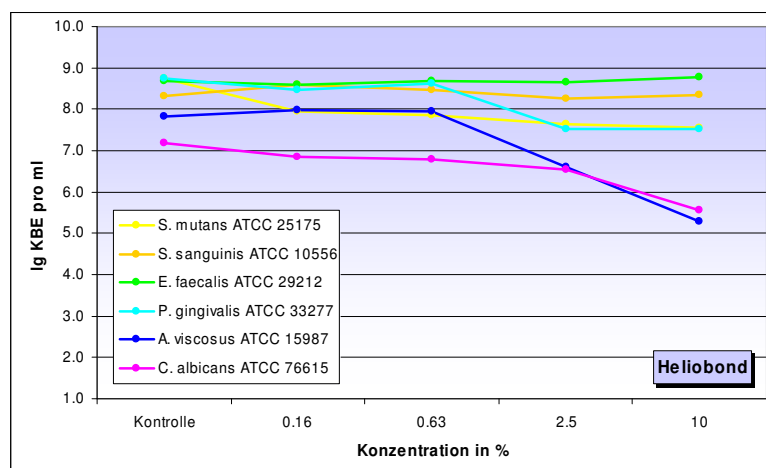


Abbildung 6: Wirkung von Heliobond auf verschiedene mikrobielle Spezies

Heliobond wies unter den verschiedenen Dentinadhäsivkomponenten die geringsten antibakteriellen Wirkungen auf. Bei *E. faecalis* ATCC 29212 und *S. sanguinis* ATCC 10556 fanden sich keine statistisch nachweisbaren Unterschiede im Vergleich zur Kontrolle. *S. mutans* ATCC 25175 wurde signifikant in allen Konzentrationen in seinem Wachstum unterdrückt ($p < 0,01$). *P. gingivalis* ATCC 33277 reagierte in allen Konzentrationen mit einer Reduktion der Bakterienzahl, welche konzentrationsabhängig absank ($p < 0,05$). Konzentrationen ab 2,5 % hemmten *A. viscosus* ATCC 15987 und *C. albicans* ATCC 76615 signifikant in ihrem Wachstum in Abhängigkeit von der Konzentration ($p < 0,01$).

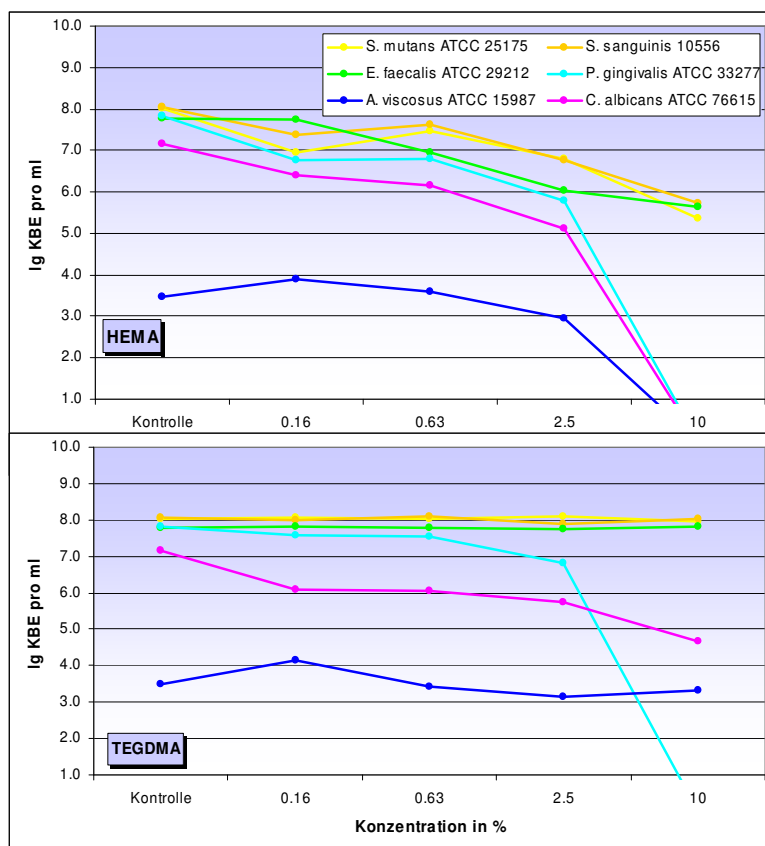


Abbildung 7: Wirkung von HEMA und TEGDMA auf verschiedene Mikroorganismen

HEMA hemmte das Wachstum der oralen Streptokokken und Enterokokken ab 0,63 % ($p < 0,01$). Mit steigender Konzentration des Monomers nahm die Koloniezahl ab. Vor allem *C. albicans* ATCC 76615 und *P. gingivalis* ATCC 33277 wurden durch dieses Material stark alteriert und in kleinsten Konzentrationen signifikant inhibiert ($p < 0,05$). Mit zunehmender Konzentration ging das Bakterienwachstums stark zurück bis zum Absterben der Population nach unverdünnter Applikation (Konzentration

10 %) in das Nährmedium. Auch *A. viscosus* ATCC 15987 wies vergleichbare Reaktionen auf, jedoch stellte sich bei einer Konzentration von 0,16 % ein statistisch nachweisbarer wachstumsfördernder Effekt dar ($p < 0,05$).

TEGDMA zeigte deutlich geringere antibakterielle Effekte als HEMA. Orale Streptokokken und Enterokokken wurden durch dieses Monomer nicht beeinflusst. *P. gingivalis* ATCC 33277 wurde signifikant durch eine Konzentrationen von 2,5 % in seinem Wachstum behindert und 10 % führten zur vollständigen Reduktion dieser Keime ($p < 0,01$). Die anaeroben Aktinomyzeten wiesen keine statistisch belegbare Wachstumshemmung auf. Bei einer Konzentration von 0,16 % in der Keimlösung zeigte sich wie bei HEMA eine signifikante geringe Erhöhung der KBE im Vergleich zur Negativkontrolle ($p < 0,05$). Bei dem Hefepilz *C. albicans* ATCC 76615 verursachte das Dimethacrylat in alle Verdünnungsstufen eine signifikante Verringerung der Population, dabei sank die Keimzahl mit steigender Konzentration ($p < 0,05$).

Um die Ergebnisse zusätzlich weiter zu veranschaulichen, wurden sie außerdem in Bezug auf die Mikroorganismen dargestellt (Abbildung 8 und 9). Reduktionen des Bakterienwachstums um mehr als eine log-Stufe deuten auf antibakterielle Effekte hin. In Tabelle 14 sind die Ergebnisse außerdem semiquantitativ dargestellt. Dabei zeigt AdheSE Primer insgesamt die stärksten antimikrobiellen Wirkungen, gefolgt von Xeno III und Syntac Adhesive. Heliobond und TEGDMA entwickelten hingegen die geringsten wachstumshemmenden Einflüsse auf die Mikroorganismen.

Tabelle 14: Antimikrobielle Wirkung der verschiedenen Dentinadhäsive

Legende: ++++ sehr starke / +++ starke / ++ geringe / + sehr geringe / - keine antimikrobiellen Effekte

	Xeno III	AdheSE Primer	AdheSE Bonding	Syntac Primer	Syntac Adhesive	Heliobond	HEMA	TEGDMA
<i>S. mutans</i> ATCC 25175	++	++++	+	+++	+++	+	+	-
<i>S. sanguinis</i> ATCC 10556	+++	++++	+	+++	++	-	+	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	++	++++	-	+	+++	-	+	-
<i>P. gingivalis</i> ATCC 33277	++++	++++	+	+++	+++	+	++	++
<i>A. viscosus</i> ATCC 15987	+++	++++	++	++	++	+	++	-
<i>C. albicans</i> ATCC 76615	++	+++	++	+++	++++	+	+++	+

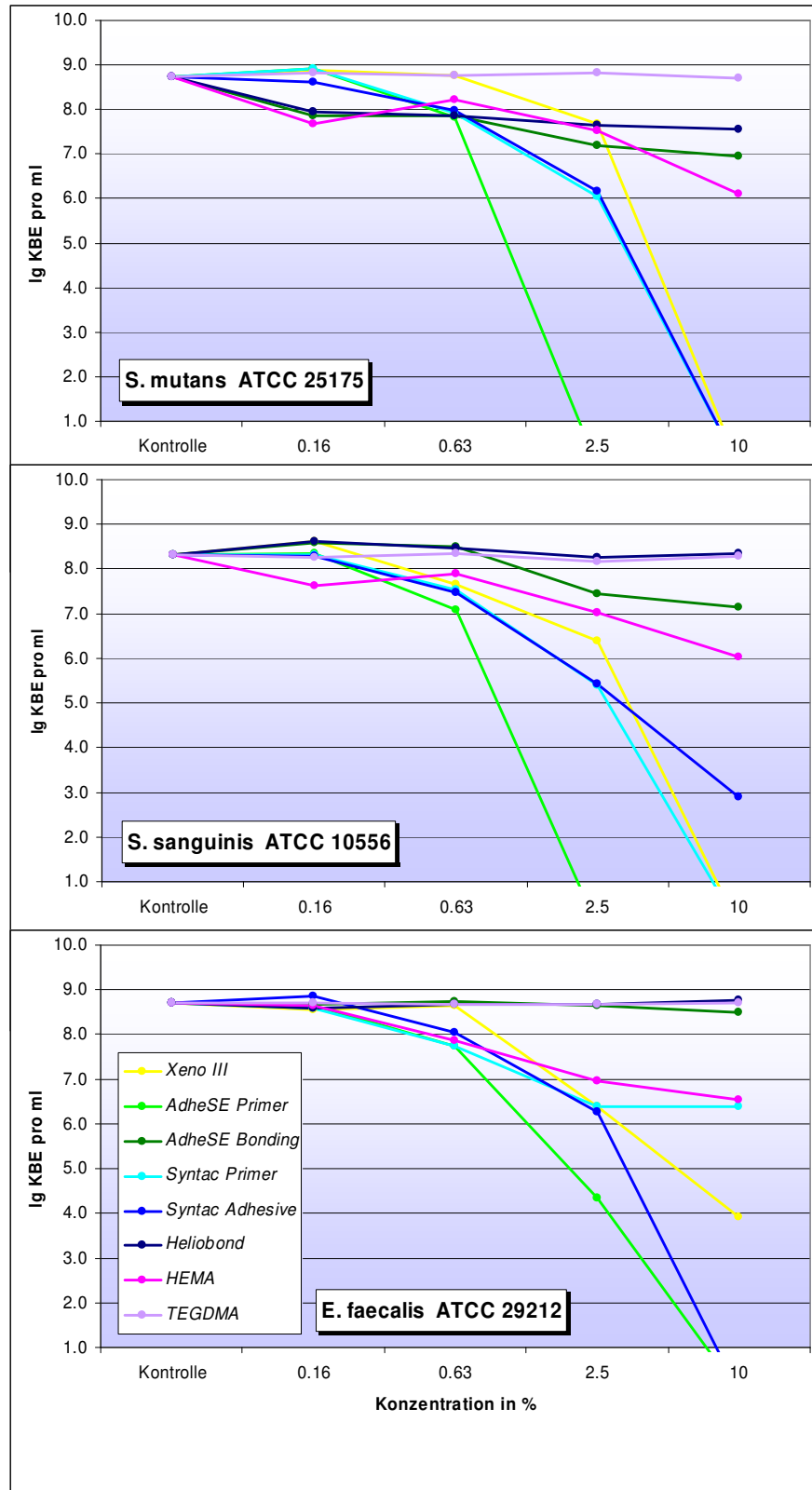


Abbildung 8: Wirkungen der verschiedenen Dentinadhäsive, speziesbezogen dargestellt

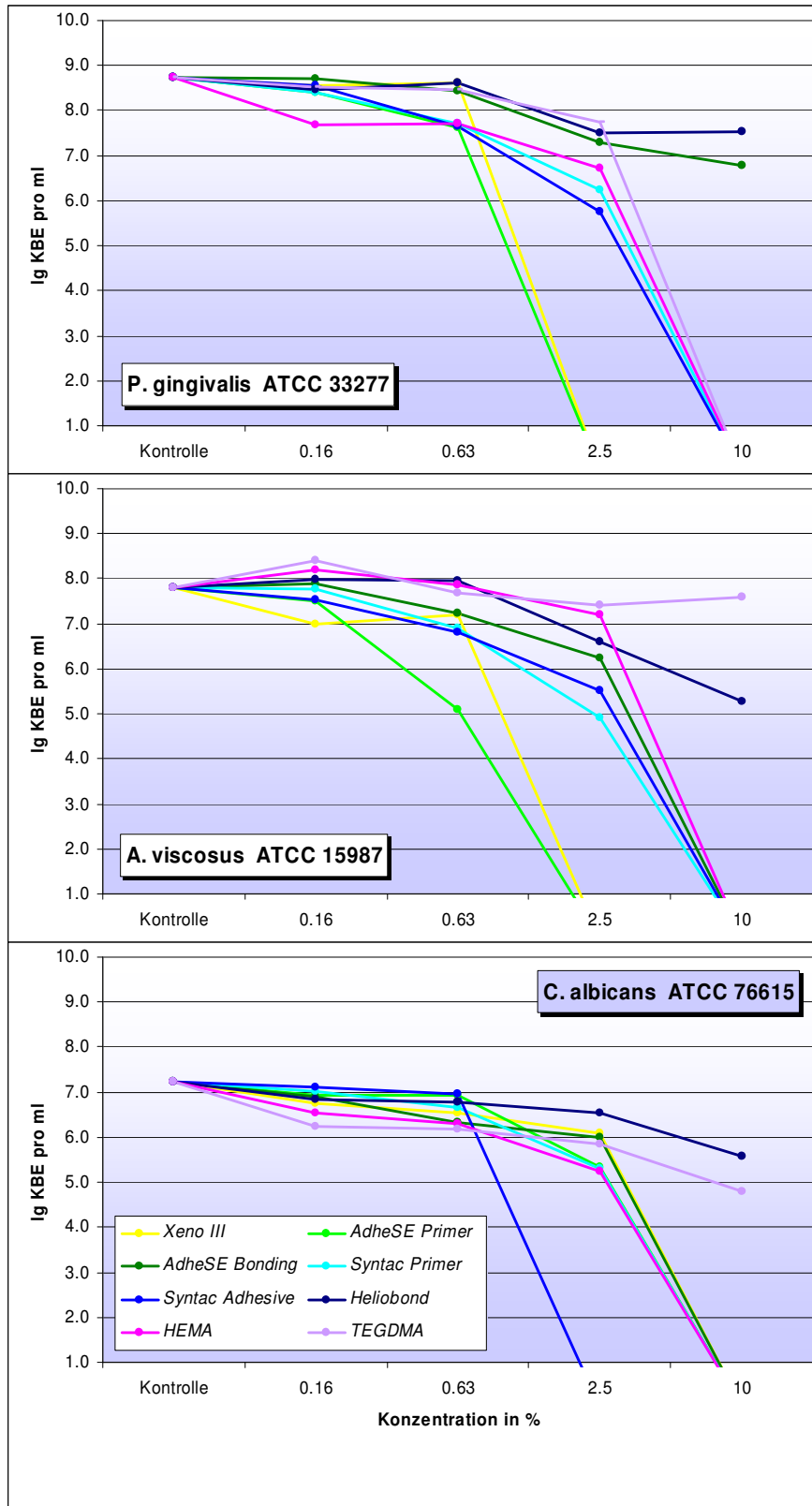


Abbildung 9: Wirkungen der verschiedenen Dentinadhäsive, speziesbezogen dargestellt

5.3. Einflüsse auf die bakterielle Adhäsion am Zahnmodell

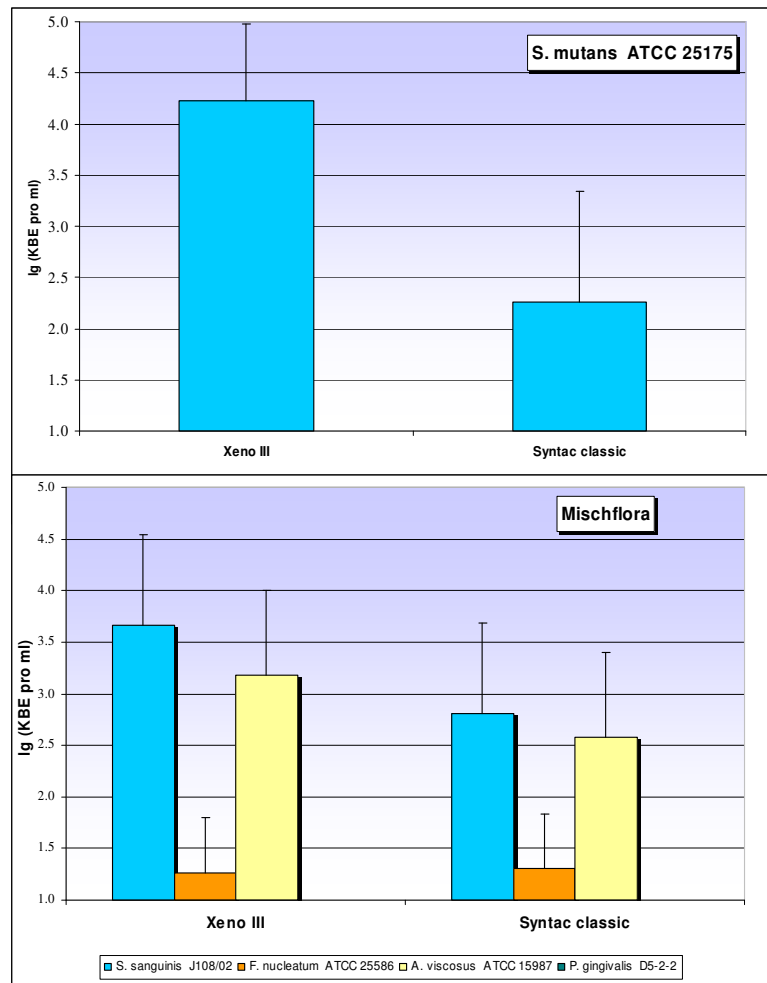


Abbildung 10: Adhäsion von *Streptococcus mutans* ATCC 25175 und einer Mischflora an einem Zahnmodell

Bei den Anlagerungsversuchen zeigte sich eine deutlich höhere Anzahl von *S. mutans* ATCC 25175 an Xenio III als an Syntac Classic ($p < 0,05$).

Auch nach Akkumulation einer künstlichen Plaque stellten sich ähnliche Ergebnisse dar. Streptokokken und Aktinomyzeten waren am häufigsten zu finden, wobei Xenio III bevorzugt besiedelt wurde. Die gefundenen Unterschiede konnten jedoch nicht statistisch unterlegt werden. Fusobakterien, die als „Brückenkeim“ in der Plaque gelten, wurden hingegen gleichermaßen unabhängig vom untersuchten Material beobachtet. *P. gingivalis* D5-2-2 wurde in dem anhaftenden Zahnbelag bei keinem

der getesteten Produkte nachgewiesen. Dieser Mikroorganismus wurde anscheinend durch beide Materialien in ihrem Wachstum gehemmt.

5.4. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zur bakteriellen Adhäsion

Um die Ergebnisse zu visualisieren wurden rasterelektronenmikroskopische Bilder angefertigt.

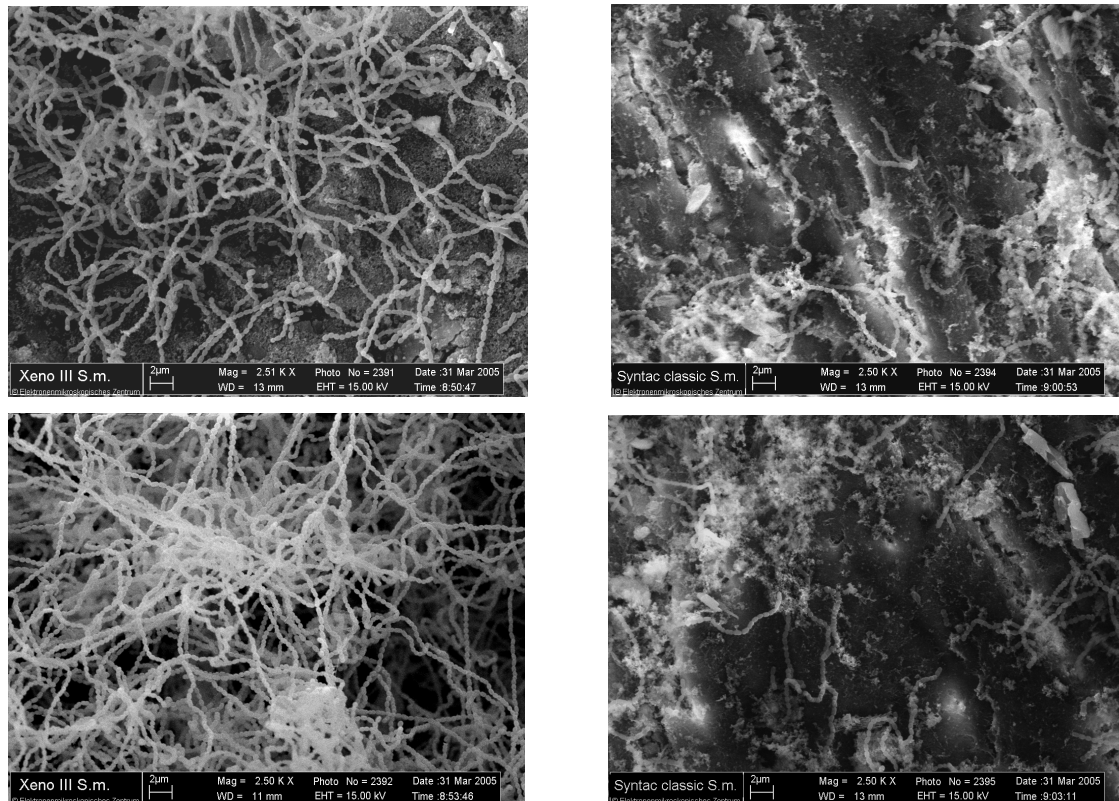


Abbildung 11: Anlagerung von *S. mutans* ATCC 25175 an Xeno III (links) und Syntac Classic (rechts)

An Xeno III (Abbildung 11) zeigte *S. mutans* netzartig verbundene Ketten von perlschnurartig aneinander gereihten Streptokokken. Bei Syntac Classic (Abbildung 11) waren diese Streptokokken-Ketten ebenfalls zu beobachten, jedoch nur vereinzelt in wesentlich geringerer Zahl. Außerdem ist das angeätzte Dentin mit seinen Tubuli, in die zum Teil die Bakterienketten hineinragten, zu erkennen. Weiterhin waren bei Syntac Classic ausgefallene Präzipitate durch die Säureätzung und Präparationstrümmen zu beobachten.

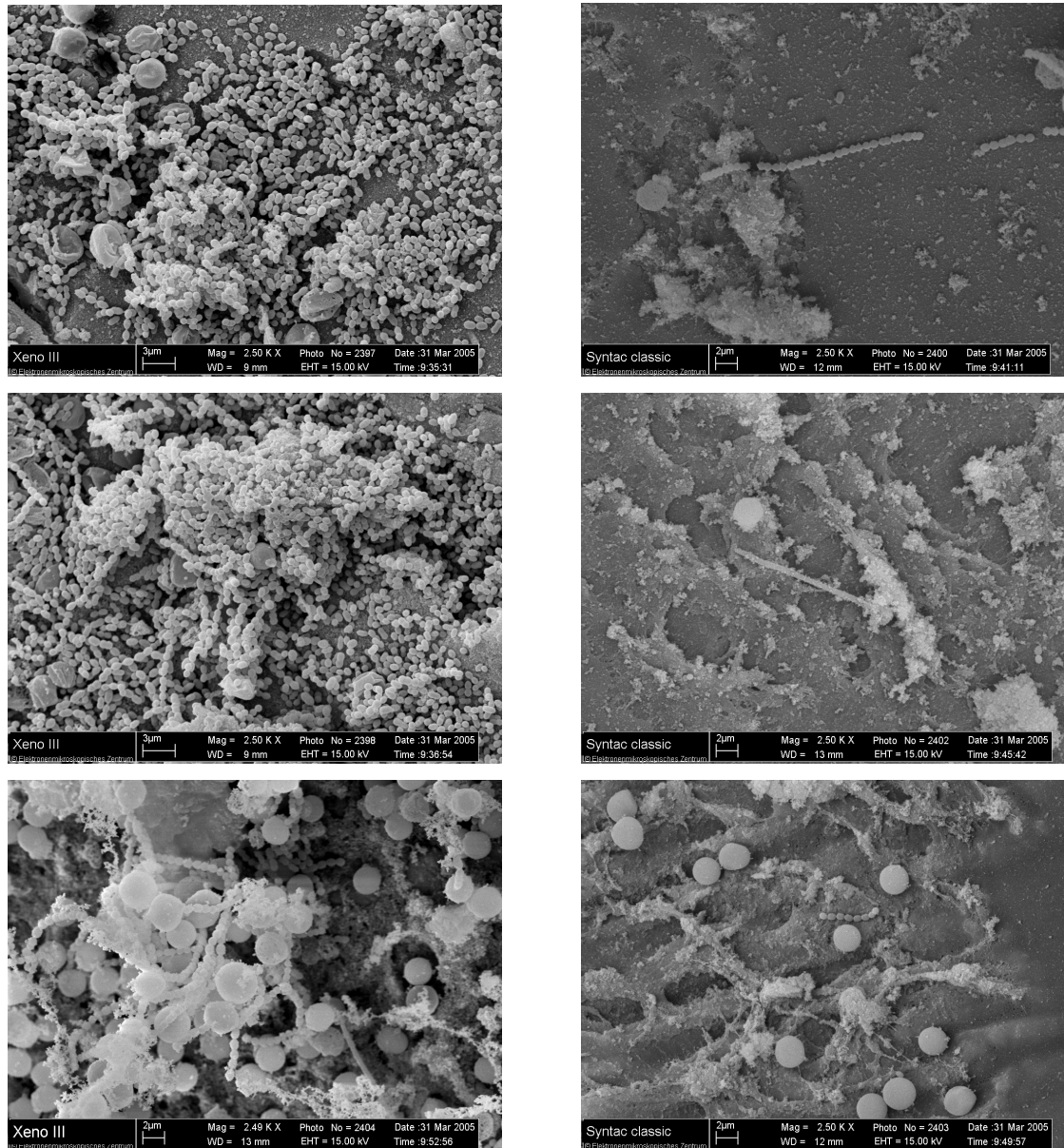


Abbildung 12: Anlagerung von *S. sanguinis* J108/02, *F. nucleatum* ATCC 25586, *A. viscosus* ATCC 15987 und *P. gingivalis* D5-2-2 an Xeno III (links) und Syntac Classic (rechts)

Bei Betrachtung der anhaftenden Plaque an Xeno III (Abbildung 12) findet sich eine große Anzahl haufenförmig oder kettenförmig zusammen gelagerter oraler Streptokokken. Dazwischen sind wenige Anaerobier auszumachen (Abbildung 12: Photo No 2402 / 2397 links unten / 2404 rechts unten). Außerdem sind zum Teil hämolysierte bzw. kugelig geschwollene Erythrozyten zu erkennen (Abbildung 12: Photo No 2397 / 2404 / 2403). Hingegen fanden sich bei Syntac Classic (Abbildung 12) nur vereinzelt Streptokokken-Ketten und stäbchenförmige Anaerobier. Weiterhin waren angeschnittene Dentintubuli und vermehrt ausgefallene Stoffe zu erkennen.

6. Diskussion

6.1. Diskussion der Methodik

Im oralen Biotop bestehen zahlreiche Wechselwirkungen zwischen Material und Gewebe. Zum einen werden lösliche Bestandteile aus inkorporierten Werkstoffen durch den Speichel und durch Materialzersetzung freigesetzt (*Ferracane 1994, Geurtsen 1998, Ortengren et al. 2001, Spahl et al. 1998*). Zum anderen bewirken diese gelösten Substanzen Reaktionen der umliegenden Gewebe und oralen Mikroflora. Um diese Wechselwirkungen zu erfassen, können klinische Untersuchungen durchgeführt werden. Diese unterliegen jedoch vielfältigen Einflüssen, weshalb es sinnvoll ist, standardisierbare Versuchsreihen zu verwenden.

Auch wenn die biologische Verträglichkeit bei reproduzierbaren In vitro-Verfahren nicht umfassend geklärt werden kann, sind werkstoffspezifische Wirkungen auf zelluläre und mikrobielle Systeme auf Grundlage mikrobiologischer Testsysteme einfach und präzise zu ermitteln. Diese Ergebnisse sind ausreichend, um Aussagen über die relative Toxizität und die Beeinflussung des Zell- und Erregerwachstums zu treffen. Sie lassen Rückschlüsse auf die Biokompatibilität der Werkstoffe besonders hinsichtlich ihrer aktiven, extrahierten Komponente zu.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden definierte Verdünnungen der unpolymerisierten Werkstoffe verwendet. Sie bieten den Vorteil, dass sie einfach herzustellen, exakt zu quantifizieren und damit zu standardisieren sind. Dadurch lässt sich die Streubreite der Ergebnisse deutlich minimieren.

Diese Versuchsreihen bieten außerdem gegenüber der direkten Materialprüfung den Vorteil, dass sich kein Diffusionsgefälle extrahierter Stoffe um den hergestellten Prüfkörper bilden kann. Man kann davon ausgehen, dass jede Zelle und jeder Mikroorganismus der Bouillonkulturen von derselben Werkstoff- bzw. wirksamen Substanzkonzentration umgeben ist. Weiterhin spielen bei der Untersuchung mittels Materialverdünnungen werkstoffspezifische Oberflächeneigenschaften (*Schmalz 1977a*) sowie subjektiv bei der Verarbeitung auftretende Qualitätsunterschiede als Störfaktoren keine Rolle. Somit können Einflüsse durch spezifische Plaqueanlagerung oder Mikrobiozöosen auf Grund ökologischer Nischenbildung

z.B. durch freie Oberflächenenergie und -rauigkeit (*Blunden et al.* 1994, *van Dijk et al.* 1987) ausgeschlossen werden.

Die fehlende Polymerisation der Substanzen bzw. die ausbleibende Vernetzung der Monomere lassen jedoch im Vergleich zur klinischen Situation eine gesteigerte Abgabe löslicher Substanzen an das verwendete Medium erwarten. Frühere Studien beweisen, dass unpolymerisierte Adhäsive zellschädigender als nach Polymerisation wirken (*About et al.* 2004, *Costa et al.* 1994, *Kaga et al.* 2001). Chen et al. stellten außerdem dar, dass ungenügende Lichtintensität über mangelhafte Polymerisation zytotoxische Reaktionen ansteigen lässt (*Chen et al.* 2001). Agardiffusionstests an oralen Streptokokken, Aktinomyzeten bzw. Laktobakterien zeigten ebenfalls, dass die antibakterielle Wirkung der meisten Bondingsysteme nach Polymerisation verloren geht oder zumindest reduziert wird (*Emilson und Bergenholtz* 1993, *Imazato et al.* 2002, *Schmalz et al.* 2004). Bei polymerisierten Materialien ist demnach eine geringere bzw. keine Toxizität bei Kontakt mit Zelllinien und Mikroorganismen anzunehmen. Dies ist bei der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse zu beachten.

Die Extraktion von Substanzen aus dentalen Werkstoffen findet vor allem initial statt und schwächt sich nachfolgend ab (*Ferracane* 1994, *Neupert und Welker* 1976, *Schedle et al.* 1998, *Wataha et al.* 1999). Entscheidend für den schädigenden Einfluss ist wiederum die Einwirkdauer dieser herausgelösten Stoffe (*Ratanasathien et al.* 1995). In der Mundhöhle kommt es jedoch durch die Spülfunktion des Speichels und den Schluckmechanismus zu einem Abtransport der gelösten Substanzen. Dieser Konzentrationsabfall wurde insofern berücksichtigt, als verschieden konzentrierte Werkstofflösungen den Nährmedien in kontrollierten Zeitabständen zugesetzt wurden.

Für die Versuchsdurchführung galten festgelegte standardisierte Bedingungen. Speichel penetriert entgegen aggressiven organischen Verbindungen nur geringfügig in Kunststoffe und ist als Lösungsmittel zwischen Ethanol und Aqua. dest. anzusiedeln (*Ferracane* 1994). In dieser Untersuchung wurde PBS anstelle von künstlichem Speichel genutzt, da keine Prüfkörper verwendet wurden und somit keine Pellikelbildung benötigt wurde. Als nachteilig ist hierbei das Fehlen von im Speichel vorkommenden Muzinen, Antikörpern und Enzymen anzusehen, welche für

die Nahrungsaufspaltung und mikrobielle Abwehr verantwortlich sind (*Hellwig et al.* 2003). Da der Versuchsaufbau von den in vivo Bedingungen abweicht, ist keine direkte Aussage über die biologische Reaktion von Geweben und Mikroorganismen der Mundhöhle möglich. Die Ergebnisse erlauben jedoch Aussagen zur Toxizität und antimikrobiellen Wirkung der Werkstoffe.

Untersuchung des Zellstoffwechsels:

Die biologischen Wirkungen dentaler Werkstoffe werden überwiegend an Zellkulturen untersucht (*Neupert und Welker* 1980). Irritierende oder zellschädigende Effekte können durch verschiedene Untersuchungsverfahren, wie Auszählung überlebensfähiger Zellen, Proliferationsrate bzw. Enzymaktivitäten bestimmt werden (*Schmalz* 1994). Wegen seiner Zuverlässigkeit und Sensitivität wird für die Bestimmung der In vitro-Toxizität weitläufig das MTT-Verfahren (*Mosmann* 1983) benutzt (*Spagnuolo et al.* 2003, *Wataha et al.* 1992). Durch die Ermittlung der enzymatischen Aktivität der mitochondrialen Dehydrogenase gilt es als ein guter Indikator zur Bestimmung der Überlebensfähigkeit von Zellen und Stoffwechselaktivität nach Einwirkung von Noxen (*Zhao et al.* 2004, *Quinlan et al.* 2002). Dehydrogenasen sind in den Mitochondrien der Zellen unter anderem am Glycerophosphat-Zyklus und als elektronentransportierende Hämoproteine an der Atmungskette beteiligt (*Löffler und Petrides* 1998).

Das MTT-Verfahren gilt als sehr effektiv, da mit wenig Zellmaterial viele Proben schnell und kostengünstig untersucht werden können (*Schweikl und Schmalz* 1996). Diese Technik erweist sich vor allem bei geringeren Konzentrationen der Testsubstanzen als besonders geeignet (*Issa et al.* 2004, *Schweikl und Schmalz* 1996). Von Nachteil ist die Notwendigkeit eines Zellkulturmediums. Es ist also nicht möglich den flüssigen Werkstoff unverdünnt auf die Zellen zu geben (*Zhao et al.* 2004), was zelluläre Effekte verändern und toxische Reaktionen abschwächen könnte (*Bouillaguet et al.* 1998).

Zellkulturtechniken werden vorwiegend mit humanen Zelllinien bzw. Mammalia-Zellen durchgeführt. Untersuchungen zahlreicher Monomere und Additiva kommerzieller Komposite an verschiedenen Zelllinien verdeutlichten, dass keine der getesteten Zelltypen konsequent empfindlicher reagierte (*Geurtsen et al.* 1998). Zur

Bestimmung der Biokompatibilität werden häufig Fibroblasten und Monozyten (*Heil et al. 2002*) verwendet.

Vorliegend wurden primäre humane Gingivafibroblasten verwendet. Diese im oralen Milieu exponierten Zellen stehen direkt mit Werkstoffen und heraus gelösten Substanzen in Kontakt. Desweiteren wurden Pulpazellen von zwei gesunden Probanden genutzt. Pulpafibroblasten reagieren auf die meisten Inhaltsstoffe empfindlicher als humane Gingiva- bzw. Mausfibroblasten (*Geurtsen et al. 1998, Grobler et al. 2004, Moodley et al. 2005*). Außerdem sind diese Zellen einfach zu identifizieren und besitzen einen im Vergleich mit dem Originalgewebe unveränderten Stoffwechsel (*Huang und Chang 2002*). Über die Tubuli des Pulpa-Dentin-Komplexes stehen die restaurative Werkstoffe in vivo in direktem Kontakt mit den Pulpazellen und können auf diese einwirken.

Untersuchung des mikrobiellen Wachstums:

Das Agardiffusionsverfahren ist eine akzeptierte Methode um die antibakterielle Aktivität verschiedener Materialien festzustellen und zu vergleichen.

Filterpapierscheiben werden mit Bondingmaterialien imprägniert und zum Teil polymerisiert (*Atac et al. 2001, Baseren et al. 2005, Cehreli et al. 2003, Emilson und Bergenholtz 1993, Imazato et al. 2002, Ohmori et al. 1999*) oder die Werkstoffe werden direkt auf den Nährboden (*Ozer et al. 2003, Schmidlin et al. 2004*) bzw. in ausgestanzte Hohlräume gegeben (*Slutzky et al. 2004*). Weiterhin finden sich häufig Studien, in denen Adhäsive herstellergetreu auf Dentindisks appliziert und polymerisiert werden. Bei dieser Methode werden die Dentindisks anschließend auf den keiminkubierten Agarboden gelegt (*Schmalz et al. 2004, Turkun et al. 2005*). Bei allen Methoden bildet sich eine Inhibitionszone um das Material, wenn lösliche, wachstumshemmende Komponenten abgegeben werden (*Imazato 2003*). Beim Vergleich der Daten mehrerer Untersuchungen zu verschiedenen Agardiffusionsmethoden (mit und ohne Disks) an Dentinbondingmaterialien fand sich, dass auf Grund ungenügender Übereinstimmung und großer Varianz der Ergebnisse kaum Vergleiche möglich waren und sich diese Methode nicht eignet, die antibakterielle Wirksamkeit von Dentinadhäsiven zu untersuchen (*Schmidlin et al. 2003*).

In den vorliegenden Untersuchungen zum Wachstum von Mikroorganismen wurden deshalb Flüssigkulturen verwendet. Diese haben gegenüber der Agardiffusionsmethode den Vorteil der größeren Sensitivität. Untersuchungen mit polymerisierten Adhäsivmaterialien zeigten im Agardiffusionstest keine hemmenden Effekte auf orale Mikroorganismen. Wurden jedoch Flüssigkulturen der Keime mit denselben, lichtgehärteten Werkstoffen in Kontakt gebracht ließen sich initial antibakterielle Wirkungen nachweisen (*Slutzky et al. 2004*). Außerdem bietet die Nutzung von Bouillonkulturen gegenüber dem Agardiffusionsverfahren die Möglichkeit, den zeitlichen Verlauf des mikrobiellen Wachstums in Abhängigkeit von Inkubationsdauer und Konzentration des Adhäsivmaterials darzustellen (*Karanika-Kouma et al. 2001*). In den vorliegenden Untersuchungen lag der Inkubationszeitraum in der exponentiellen Phase des mikrobiellen Wachstums. Die Negativkontrolle galt als Richtwert für optimales Wachstum ohne Fremdeinflüsse durch biologisch wirksame Stoffe. Werte unterhalb dieses Kontrollwertes deuten auf wachstumshemmende Wirkungen hin. Wachstumsfördernde Eigenschaften zeigen sich oberhalb der Negativkontrolle. Bei Anwendung der Agardiffusionstechnik sind wachstumsstimulierende Wirkungen hingegen nur in Extremfällen überhaupt feststellbar.

Um das Keimwachstum zu quantifizieren wurden nach Plattierung auf spezielle Nährböden die koloniebildenden Einheiten [KBE] ermittelt. Durch Zählung der Subkulturen wird im Gegensatz zur Bestimmung des Trübungsgrades der Flüssigkultur nach den Mc Farland Standard nur die zum Zeitpunkt vorhandene vitale Mikroflora erfasst. Mikroorganismen die durch die chemisch-toxische Wirkung der Werkstofflösungen abgestorben sind werden nicht mit einbezogen.

Die Auswahl der Mikroorganismen richtete sich nach der klinischen Relevanz bei der Entstehung der supra- und subgingivalen Plaque sowie der Pathogenese der Karies. Es wurden Monokulturen aus der Stammsammlung des Mikrobiologischen Institutes Jena verwendet: *S. mutans* und *S. sanguinis* gehören zur Standortflora der Mundhöhle. Diese oralen Streptokokken gelten auf Grund Ihrer Fähigkeit zur Bioadhäsion an der Pellikelschicht und Möglichkeit extrazelluläre Polysaccharide zu bilden als Wegbereiter der Plaqueanlagerung und der Kariesentstehung (*Kayser et al. 2001*). *E. faecalis* gehört zur Standortflora des Darmes. Dieser Keim besitzt eine hohe chemische und physikalische Widerstandsfähigkeit auch bei hohen pH-Werten

und weist außerdem häufig Resistenzen gegen Antibiotika auf. Als Opportunisten sind Enterokokken oft als Bestandteil einer Mischflora auch in der Mundhöhle zu isolieren. Im oralen Milieu gelten sie als hartnäckige, schwer entfernbare Mikroorganismen bei der chemischen Behandlung des gangränös, entzündeten Wurzelkanals und begünstigen Misserfolge bei der Wurzelkanalbehandlung (*Kayser et al.* 2001). *P. gingivalis* ist ein obligat anaerobes, gramnegatives Stäbchen, welches die Schleimhäute besiedelt. Dieser Keim ist mit schweren Fällen der chronischen und aggressiven Parodontitis assoziiert. *A. viscosus* ist ein Vertreter der Normalflora der Schleimhäute und kommt vorwiegend in der Mundhöhle vor. Diese obligat anaeroben, grampositiven Stäbchen wachsen in jungen Kulturen in Form von verzweigten Filamenten. Neben der Aktinomykose sind Aktinomyzeten außerdem an der Ätiologie der Karies und Parodontitis beteiligt (*Kayser et al.* 2001). Als Vertreter der Sprosspilze wurde *Candida albicans* für die Untersuchungen herangezogen. Er gehört zu den fakultativen Besiedlern der maturierten Plaque, wobei ein natürlicher Antagonismus mit *P. gingivalis* und *S. sanguinis* um freie Rezeptorplätze bei der Adhäsion an Acrylaten festgestellt wurde (*Nair und Samaranayake* 1996).

Untersuchung bakterieller Adhäsion am Zahnmodell:

Um die Versuchsreihen an klinische Untersuchungen anzupassen – unter dem Aspekt standardisierte Bedingungen beizubehalten und Störfaktoren soweit wie möglich auszuschließen – wurden Untersuchungen an einem Zahnmodell durchgeführt. Dieses Modell zeigt im Gegensatz zum Agardiffusionsverfahren die wesentlichen antibakteriellen Effekte von Dentinbondingsystemen auf (*Ozer et al.* 2003). In die verwendeten Zähne wurden standardisierte Kavitäten präpariert. Nach alkoholischer Dekontamination wurden sie mit synthetischem Speichel versetzt um die Ausbildung einer Pellicel zu erreichen. Diese enthält spezifische Bindungsproteine, die für die initiale Adhäsion oraler Streptokokken verantwortlich sind. Speichel- und Glycoproteine stellen somit Rezeptoren für die Bindung an den Schmelz aber auch für bakterielle Adhärenz dar (*Bergmann et al.* 1990, *Newman et al.* 1993). Durch den Zusatz von Muzinen und bestimmten Salzen wird eine Annäherung an mundmilieuähnliche Bedingung geschaffen. Es erfolgte eine Bebrütung mit einer Streptokokken-Monokultur bzw. einer Mischflora, welche die natürliche Plaqueanlagerung imitieren soll.

Die mikrobiologische Zusammenstellung der experimentellen Plaqueflora wurde einer früheren Untersuchung entnommen (*Duda 2005*). Neben den bereits erläuterten Testkeimen wurde zusätzlich *Fusobacterium nucleatum* verwendet. Bei der Bildung der Plaque dient dieses Bakterium als „Brückenkeim“ und der Kommunikation innerhalb des Bakterienbelags.

6.2. Diskussion der Ergebnisse

Photopolymerisierende Füllungswerkstoffe gelten nach der Polymerisation im Allgemeinen als vollständig vernetzt. Die tatsächliche Aushärtung nimmt jedoch meist eine wesentlich längere Zeit in Anspruch (*Wirz et al. 1995*). Eine initiale, kurzzeitige bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung bei der Applikation ohne weitere toxische Einflüsse auf orale Gewebe wäre unter dem Aspekt der Kavitätendesinfektion wünschenswert. Bei der Randspaltproblematik wäre ein langfristiger antibakterieller Effekt zur Verhinderung von Sekundärkaries wertvoll.

6.2.1. Diskussion der zellulären Reaktionen

Nach kurzzeitiger Einwirkung der Materiallösungen von ca. 2 h wiesen die Gingivafibroblasten bei der photometrischen Auswertung zum Teil überschießende Extinktionen gegenüber der Negativkontrolle auf. Diese Beschleunigung des Zellstoffwechsels weist auf eine Stressreaktion der Fibroblasten hin. Der Stoffwechsel wird erhöht und die vorhandenen Energiereserven genutzt. Die Zellen versuchen, erste auftretende Schäden zu kompensieren. Längere Einwirkung nach etwa 18 h zeigen jedoch, dass dieser reversible, zelluläre Stress nur ein Vorbote einer irreversiblen, zelltoxischen Reaktion ist. Bei Einwirkung starker Noxen finden sich vor allem nekrotische Zellen (*Roll et al. 2004*). Durch Blockierung wichtiger Signalwege kommt es zur Lyse der Zelle und somit zum Zelltod (*Kaga et al. 2001, Spagnuolo et al. 2006*).

Pulpazellen stehen über die Dentinkanälchen mit den Dentinadhäsiven im Kontakt. Obwohl nur bestimmte Moleküle die Tubuli durchdringen können, sind direkte Schädigungen nicht auszuschließen (*Galler et al. 2005*). Ebenso wie bei den Gingivafibroblasten zeigen sich deutliche Stressreaktionen. Bei der relativ langen

Einwirkzeit von 18 h finden sich diese Effekte vor allem bei niedrigeren Substanzkonzentrationen. Sie sind wesentlich ausgeprägter als bei den Gingivazellen. Adhäsive induzieren Entzündungen und führen abhängig vom Grad der Polymerisation bei Odontoblasten, Pulpazellen und Makrophagen über Blockierung wichtiger Signalwege zum Stillstand des Zellzyklus oder über Aktivierung der Protease Caspase-3 zum Zelltod (*Mantellini et al.* 2003).

Unter den Produkten provozierten vor allem die selbstätzenden Systeme erhebliche zellschädigende Wirkungen. Eine Ursache könnte der sehr saure pH-Wert sein, wobei pulpale Zellen offensichtlich stärker geschädigt wurden. AdheSE Primer mit einem pH-Wert von 2 wies bei beiden Zelllinien die größten zytotoxischen Effekte unabhängig von der Einwirkdauer und -konzentration auf. Die enthaltene hydrolyse stabile Phosphonatverbindung könnte hierbei für eine dauerhafte Erniedrigung des pH-Wertes verantwortlich sein. Ähnliche Ergebnisse mit sauren Primer-Adhäsiven an odontoblastenartigen Zellen unterstreichen diese Vermutung (*Costa et al.* 1994). Xeno III besitzt einen pH-Wert von 1,1 und führte ebenfalls zu starken toxischen Effekten. Die Zytotoxizität stieg dabei mit zunehmender Konzentration im Medium kontinuierlich an (*Issa et al.* 2004, *Chen et al.* 2003). Die im Vergleich zu AdheSE Primer schwächere Wirkung könnte auf die hydrolyseinstabile Monomerlösung zurückzuführen sein. Bei Untersuchungen an Pulpazellen mit selbstätzenden Primern wurden ebenfalls toxische Wirkungen beobachtet, wobei der Einfluss von HEMA diskutiert wurde (*Imazato et al.* 2000). Syntac Primer weist ähnlich Xeno III einen pH-Wert von ca. 1,2 auf. Dieses Material erzeugte ebenfalls nur vergleichsweise geringe toxische Effekte, was den Einfluss der chemischen Zusammensetzung neben dem pH-Wert auf die Zytotoxizität unterstreicht.

Unpolymerisierte Primer und Adhäsive geben lösliche Substanzen in das Zellmedium ab, die mit der Zytotoxizität korrelieren (*Kaga et al.* 2001). Dies wurde vor allem deutlich bei Syntac Adhesive gezeigt. Unabhängig von der Einwirkdauer traten selbst bei starker Verdünnung eindeutige Schädigungen der Zelllinien auf. In gleichen Versuche an L929-Fibroblasten wurden stärkere toxische Wirkungen von Syntac Classic im Vergleich zu Syntac Single Component ermittelt (*Hashieh et al.* 1999). Auch Dentinbarrieretests an Pulpazellen unterstreichen diese Ergebnisse (*Schmalz et al.* 2002). Die starken zytotoxischen Effekte sind sehr wahrscheinlich auf den

Zusatz des umstrittenen Glutaraldehyd zurückzuführen, welches zu 5 % enthalten ist (*Schmalz et al. 2002*). Das Glutaraldehyd enthaltene Bondingsystem GLUMA, sowie die reine Substanz zeigten sehr starke toxische Eigenschaften auf 3T3-Zellen (*Hanks et al. 1992*). Des Weiteren wurde in Dentinbarrieretests die Zellschädigung durch diese Substanz im Gegensatz zu anderen Monomeren nicht durch eine Dentinbarriere reduziert (*Hanks et al. 1992, Galler et al. 2005*).

Weiterhin scheint das in vielen Dentinadhäsiven enthaltene Monomer HEMA eine wichtige Rolle bei der Ausprägung zellschädigender Effekte zu spielen, wie Versuche an Pulpazellen berichten (*Costa et al. 1994*). Es ist bekannt, dass unpolymersierte Adhäsivmaterialien dieses hydrophile Monomer bevorzugt abgeben (*Imazato et al. 2000, Kaga et al. 2001*). HEMA ist Bestandteil in Xeno III und AdheSE Bonding und wurde außerdem als Reinsubstanz untersucht. HEMA zeigte stark toxische Effekte auf die Zellen. Die Adhäsivmaterialien wirkten auf die Gingivazellen im Vergleich zu HEMA schwächer. Bei den Pulpazellen führte Xeno III jedoch zu stärkeren Schädigungen als das Comonomer. Ursache hierfür könnte die wesentlich höhere Empfindlichkeit dieser Zelllinie auf saure pH-Bereiche sein. Des Weiteren ist anzunehmen, dass andere enthaltene Komponenten in Xeno III die zytotoxischen Wirkungen auf Pulpazellen im Sinne eines additiven Effektes verstärken (*Bouillaguet et al. 1998, Costa et al. 1994, Hashieh et al. 1999, Koliniotou-Koubia et al. 2001, Ratanasathien et al. 1995, Szep et al. 2002*). Bei Untersuchungen an L929-Fibroblasten beobachtete man ebenfalls zellschädigende Wirkungen von HEMA (*Kaga et al. 2001*). Eine Ursache für das toxische Verhalten ist der negative Einfluss auf die intrazelluläre Tyrosinphosphorylase, welche für Zellaktivität und –wachstum verantwortlich ist (*Kaga et al. 2001*). Weiterhin führt dieser Stoff zu oxidativen Stress und triggert somit die Einleitung des Zelltods. Zum einen werden dabei dosisabhängig Sauerstoffradikale in den Zellen freigesetzt (*Spagnuolo et al. 2006*). Zum anderen beeinflusst das Dimethacrylat das Redoxpotential von Glutathion, was Untersuchungen an THP-1 Monozyten berichten (*Noda et al. 2005*).

Als weiteres Comonomer wurde TEGDMA untersucht, dem zytotoxische Einflüsse nachgewiesen wurden (*Issa et al. 2004, Kaga et al. 2001*). Syntac Primer enthält lösliche Bestandteile ähnlich diesem Monomer. Auch Heliobond besteht aus TEGDMA und Bis-GMA. Im Vergleich mit den anderen untersuchten Produkten, wiesen TEGDMA, Heliobond und Syntac Primer jedoch nur geringe zellschädigende

Eigenschaften auf. Vergleichbare Versuche mit L929-Zellen führten zu gleichen Ergebnissen (*Koliniotou-Koubia et al. 2001*). Studien mit Monomerlösungen an Fibroblasten stellten im Widerspruch zu dieser Untersuchung HEMA als das am geringsten alterierende Material dar, TEGDMA hingegen als stark toxisch (*Issa et al. 2004, Ratanasathien et al. 1995*). Jedoch zeigten Heliobond und TEGDMA in dieser Untersuchung auch auf die empfindlicheren Pulpazellen nur geringe zytotoxische Wirkungen ebenso wie in anderen Studien mit Heliobond (*Huang und Chang 2002*). Dentinbarrieretests kamen ebenfalls zu diesen Ergebnissen (*Hanks et al. 1992*). TEGDMA hemmt wahrscheinlich die Phosphatidylinositol 3-Kinase und kann somit die Apoptose von Pulpazellen induzieren (*Spagnuolo et al. 2004*). Bei der Untersuchung einzelner Monomere an Gingivazellen wurden vor allem TEGDMA und Bis-GMA als stark schädigend eingestuft (*Issa et al. 2004, Ratanasathien et al. 1995, Szep et al. 2002*). Da aber gerade Heliobond beide Methacrylate enthält und trotzdem nur geringe Wirkungen zeigte, ist in diesem Fall eine antagonistische Interaktion der Comonomere zu vermuten (*Bouillaguet et al. 1998, Costa et al. 1994, Koliniotou-Koubia et al. 2001, Ratanasathien et al. 1995, Szep et al. 2002*).

6.2.2. Diskussion der Einflüsse auf das mikrobielle Wachstum

Betrachtet man die Ergebnisse der einzelnen Mikroorganismen, förderte keines der untersuchten Produkte das Keimwachstum. Die untersuchten Substanzen hemmten vorwiegend die mikrobielle Vermehrung oder verhielten sich indifferent. Vor allem *S. mutans* ATCC 25175 ist bereits in unzähligen Studien mit den verschiedensten dentalen Materialien in Kontakt gebracht worden. In Agardiffusionstests reduzierten Adhäsivmaterialien diesen Keim jedoch unterschiedlich stark (*Atac et al. 2001, Cehreli et al. 2003, Herrera et al. 2000, Meiers und Miller 1996, Ohmori et al. 1999*). Es wurden nur wenige Studien mit Flüssigkulturen durchgeführt, wobei sich vergleichbar mit der eigenen Untersuchung variable wachstumshemmende Effekte der verschiedenen Adhäsive fanden (*Imazato et al. 1998*). Untersuchungen von Prati et al. an Flüssigkulturen und mittels Agardiffusionsverfahren wiesen bei oralen Streptokokken hingegen keine Beeinflussung des Bakterienwachstums nach (*Prati et al. 1993*). Vermutlich wurden die Materialien herstellergetreu verarbeitet, somit polymerisiert und verloren dadurch weitgehend ihre antibakterielle Wirkung. *E. faecalis* zeigte im Allgemeinen eine schwächere Reaktion auf die zugegebenen

Dentinadhäsive als die Streptokokken. Die obligat anaeroben Bakterien wurden in der Regel stärker in ihrem Wachstum unterdrückt.

P. gingivalis wurde im Agardiffusionstest bereits mit verschiedenen Materialien untersucht (*Atac et al.* 2001, *Herrera et al.* 2000). Studien zur bakteriellen Aktivität von Dentinadhäsiven mittels Agardiffusion wurden neben Streptokokken häufig an Aktinomyzeten durchgeführt (*Herrera et al.* 2000, *Karanika-Kouma et al.* 2001, *Meiers und Miller* 1996, *Schmidlin et al.* 2003). Die Reaktionen von Keimflüssigkulturen des Sproßpilzes *C. albicans* auf Dentinadhäsive wurde bisher nur wenig untersucht (*Molgatini et al.* 1993).

Die gefundenen wachstumshemmenden Effekten auf *S. mutans* ATCC 25175 wurden in verschiedene Agardiffusionsuntersuchungen bestätigt (*Schmalz et al.* 2004, *Turkun et al.* 2005). Schmalz et al. verwendeten hierbei das chemisch vergleichbare Vorgängeradhäsiv Xeno CF II (*Schmalz et al.* 2004). Die Bakterienhemmung schwächte nach Polymerisation des Materials ab (*Turkun et al.* 2005). Weitere Studien mit polymerisierten Adhäsiven ermittelten im Diffusionsverfahren sowie im direkten Kontakt wachstumsunterdrückenden Effekte von Xeno III auf Mutans-Streptokokken (*Feuerstein et al.* 2007). Ebenso wurden bei AdheSE wachstumshemmende Einflüsse auf *S. mutans* beobachtet (*Feuerstein et al.* 2007). In vitro-Versuche mit Syntac Primer an mit *E. faecalis* ATCC 29212 kontaminierten Dentinscheiben berichten vergleichbar mit den eigenen Untersuchungen von keiner Hemmung des Wachstums (*Schmidlin et al.* 2004). Diskdiffusionsversuche mit diesem Primer ergaben in Übereinstimmung mit den eigenen Ergebnissen geringe antibakterielle Wirkungen auf *Streptococcus* spp. und *Actinomyces* spp., wobei Anaerobier mehr gehemmt wurden (*Schmidlin et al.* 2003). Syntac Adhesive führte im eigenen Versuch zu starken antibakteriellen Effekten. Auch in anderen Untersuchungen wurden wachstumshemmende Wirkungen bei *S. mutans* ATCC 25175 und *A. viscosus* ATCC 15987 ermittelt (*Herrera et al.* 2000, *Karanika-Kouma et al.* 2001, *Meiers und Miller* 1996). Heliobond wies die geringsten antibakteriellen Eigenschaften innerhalb der untersuchten Materialien auf. In anderen In vitro-Untersuchungen führte dieser Haftvermittler ebenfalls nur zu geringen bzw. keinen inhibitorischen Effekten auf Bakterien (*Fraga et al.* 1996, *Meiers und Miller* 1996, *Schmidlin et al.* 2003, *Schmidlin et al.* 2004). Eine Desinfektion mit *E. faecalis* ATCC 29212 infizierten Dentindisks fand nicht statt (*Schmidlin et al.* 2004).

In der vorliegenden Untersuchung reagierten die Anaerobier in der Regel empfindlicher als die oralen Streptokokken. So hemmte z.B. Xeno III mit einer Konzentration von 2,5 % im Medium das Wachstum der Anaerobier. Eine ähnlich konzipierte Untersuchung an Flüssigkulturen ermittelte bei Xeno Bond eine minimale Hemmkonzentration [MHK] von 2,5 % für *A. viscosus* und *S. mutans*, bei AdheSE wurden unterschiedliche MHK-Werte von 6,25 % bis 12,5 % für *S. mutans* und 0,625 % bis 3,13 % für *A. viscosus* nachgewiesen (*Imazato et al.* 2002). Bei polymerisierten Syntac Classic wurden antimikrobielle Effekte auf *S. mutans* ATCC 25175 und *A. viscosus* ATCC 15987 festgestellt, wobei Aktinomyzeten stärker gehemmt wurden (*Meiers und Miller* 1996). Agardiffusionsversuche mit polymerisiertem Heliobond ergaben in anderen Untersuchungen unterschiedliche Ergebnisse: Bei Meiers und Miller wurden *S. mutans* ATCC 25175 und *A. viscosus* ATCC 15987 nicht gehemmt (*Meiers und Miller* 1996), während Schmidlin et al. eine geringe Hemmung bei *Actinomyces* spp. und ungestörtes Wachstum bei *Streptococcus* spp. berichteten (*Schmidlin et al.* 2003). Ursache für die stärkeren Wirkungen auf Anaerobier könnte eine niedrigere Säuretoleranz sein. So reagierte *A. viscosus* säureempfindlicher als *S. mutans* und *L. casei* (*Harper und Loesche* 1984).

Der niedrige pH-Wert unter 3 von selbstätzenden Systemen wird von einigen Autoren für die antibakterielle Wirkung vor allem auf Anaerobier verantwortlich gemacht (*Baseren et al.* 2005, *Emilson und Bergenholtz* 1993, *Herrera et al.* 2000, *Imazato* 2003, *Imazato et al.* 2002, *Turkun et al.* 2005). Geringere Reaktionen der säuretoleranteren Laktobazillen auf saure Monomere unterstreichen diese Aussage (*Emilson und Bergenholtz* 1993, *Imazato et al.* 1998, *Imazato et al.* 2002, *Schmalz et al.* 2004). So zeigte z.B. das Xeno III ähnliche All-in-one-Adhäsiv Prompt L-Pop stark hemmende Einflüsse auf ATCC 25175 im Diffusionstest (*Baseren et al.* 2005, *Cehreli et al.* 2003). Weiterhin führten Primer von Dreikomponentensystemen, wie Syntac Classic, zu starken antimikrobiellen Effekte auf *S. mutans* im Diskdiffusionsverfahren (*Baseren et al.* 2005).

Neben dem pH-Wert könnte die Abgabe von Inhaltsstoffen (*Baseren et al.* 2005, *Imazato et al.* 2002, *Karanika-Kouma et al.* 2001, *Meiers und Miller* 1996, *Turkun et al.* 2005), wie Haftmonomere, Initiatoren und Nanofüllstoffe (*Atac et al.* 2001), eine

wichtige Rolle für die Ausbildung antibakterieller Effekte spielen. Die stark antimikrobielle Eigenschaften von Syntac Adhesive wurden so dem Inhaltsstoff Glutaraldehyd zugesprochen (*Fraga et al.* 1996, *Herrera et al.* 2000, *Imazato* 2003, *Meiers und Miller* 1996). Auch niedrige Konzentrationen von Glutaraldehyd führten zu Wachstumshemmungen von Mikroorganismen (*Meiers und Miller* 1996, *Scherer et al.* 1990), z.B. nach Infektion von Dentin mit *E. faecalis* ATCC 29212 (*Schmidlin et al.* 2004). Bei klinischer Anwendung des Dreischrittsystems Syntac könnten sich die wachstumshemmenden Wirkungen von Primer und Adhesive in Form eines synergistischen bzw. additiven Effektes verstärken (*Herrera et al.* 2000).

Ein häufiger Bestandteil kommerzieller Dentinadhäsive ist das Dimethacrylat HEMA. Es wirkte auf Enterokokken und orale Streptokokken nur gering wachstumshemmend. In Diskdiffusionsversuchen inhibierte HEMA *S. mutans* ATCC 25175 nicht (*Schmalz et al.* 2004). Auch in ähnlichen Versuchen mit total etch one bottle-Systemen und selbstätzende Primern, wie Xeno III, wurde keine signifikante Wachstumshemmung von *S. mutans* durch HEMA beobachtet (*Atac et al.* 2001, *Imazato et al.* 1998). Sie bestätigten jedoch die antibakterielle Wirkung auf *P. gingivalis* (*Atac et al.* 2001) und *A. viscosus* (*Imazato et al.* 1998). Polymerisierte Bondingsysteme, die HEMA enthielten, wirkten in Agardiffusions- und direkten Kontaktverfahren jedoch stärker antimikrobiell als solche ohne diesen Inhaltsstoff (*Imazato et al.* 1998). Auch bei AdheSE Bonding wurde das hydrophile Monomer HEMA für die antibakterielle Wirkung verantwortlich gemacht (*Turkun et al.* 2005).

Neben HEMA kommen wie bei Heliobond auch Monomere wie TEGDMA und Bis-GMA in Betracht. TEGDMA störte in den vorliegenden Untersuchungen das Wachstum von Enterokokken und oralen Streptokokken nicht. Diskdiffusionsversuche mit diesem Material wiesen ebenfalls keine antibakteriellen Wirkungen bei *S. mutans* ATCC 25175 nach (*Schmalz et al.* 2004). Versuche mit Monomerlösungen an Flüssigkulturen, vergleichbar mit den eigenen Untersuchungen ermittelten sogar eine leichte Wachstumsstimulierung von Streptokokken (*Hansel et al.* 1998). Weiterhin wurde berichtet, dass durch Abgabe von Monomeren, wie z.B. TEGDMA, die Glycosyltransferase von Streptokokken und somit die Glucansynthese stimuliert wird, was das Plaquewachstum begünstigt (*Kawai und Tsuchitani* 2000). Syntac Primer enthält Monomere ähnlich TEGDMA. Diese könnten zusätzlich zur Wirkung der Maleinsäure antimikrobielle Eigenschaften bedingen. Es wurde

berichtet, dass vor allem die Kombination der Säure mit TEGDMA einen synergistischen Effekt hervorrufen könnte (*Herrera et al.* 2000), was die stärkere Wachstumshemmung von Syntac Primer im Vergleich zu Heliobond bzw. TEGDMA erklären könnte.

6.2.3. Diskussion der Einflüsse auf die bakterielle Adhäsion am Zahnmodell

Die Versuche am Zahnmodell zur bakteriellen Anlagerung stellen ein komplexes In vitro-System dar. Trotz standardisierter Bedingungen ist es möglich die in vivo vorkommenden Verhältnisse annähernd zu reflektieren. Der Einfluss der lichtinduzierten Vernetzung der Monomere auf die antibakterielle Aktivität kann so untersucht werden.

Die Monokultur *S. mutans* wies eine wesentlich größere Adhäsion an Xeno III auf als an Syntac Classic. Das selbstätzende Dentinadhäsiv besitzt einen wesentlich niedrigeren pH-Wert als Syntac. Trotzdem zeigte es keine antibakterielle Aktivität. Dies könnte zum einen daran liegen, dass *S. mutans* eine gewisse Säuretoleranz aufweist und der Säurecharakter von Xeno III auf Grund der Abpufferung von überschüssigen, sauren Monomeren durch Kalziumionen abgeschwächt wurde. Außerdem wurde die Abgabe löslicher Bestandteile durch die Polymerisation verringert. Im vorangegangenen Versuch antimikrobiell getestete Substanzen wie HEMA wären dadurch kaum wirksam. Syntac Classic hingegen enthält das Zellgift Glutaraldehyd. Diese Substanz ist für zytotoxische und antibakterielle Wirkungen bekannt (*Schmidlin et al.* 2004) und könnte die geringere Plaqueanlagerung erklären. Neben dem chemischen Charakter könnten Oberflächeneigenschaften eine Rolle spielen z.B. Rauigkeiten, Mikroporositäten, sowie Einschlüsse von Wasser und Luft in der Hybridschicht.

Ähnliche Ergebnisse zeigte die Anlagerung der Mischflora. Es fanden sich überwiegend Streptokokken und Aktinomyzeten. Auch hier wies Xeno III eine höhere Anlagerungsrate als Syntac Classic auf. Da Anaerobier in der Regel säureempfindlicher reagieren, scheint der pH-Wert laut den Ergebnissen über das Bakterienwachstum keinen Einfluss auf die Adhäsion zu nehmen. Wichtig für die Plaqueanlagerung sind die Oberflächenproteine der Pellikel, die durch den künstlichen Speichel erzeugt wurden, sowie die Rauigkeiten der Werkstoffe. Die

Abgabe von freien Monomeren ist durch die Polymerisation wesentlich eingeschränkt und spielt wahrscheinlich nur eine untergeordnete Rolle. Bei Xeno III und Syntac Classic wurden etwa die gleiche Anzahl Fusobakterien ermittelt. Diese fungieren in der Plaque als Brückenkeim. Sie vermitteln die Organisation und Kommunikation innerhalb des Zahnbelages. *P. gingivalis* ist in keinem Versuch gefunden worden. Eine mögliche Ursache könnte die Verdrängung durch die bereits vorher adhärierten Bakterien gewesen sein bzw. das Fehlen „freier Plätze“ in der Plaque. Außerdem ist dieser Keim vorwiegend im subgingivalen Bereich bei der Progression parodontaler Erkrankungen zu finden.

6.2.4. Diskussion der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zur bakteriellen Adhäsion

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen bestätigten deutlich die ermittelten Ergebnisse. Die Adhäsion der Monokultur wies bei Syntac Classic nur vereinzelte, perlschnurartige Ketten an Streptokokken auf. Xeno III zeigte hingegen eine hohe Zahl adhärenter Bakterien. Bei der Mischkultur stellten sich ähnliche Ergebnisse dar. Neben den Streptokokken waren vereinzelt anaerobe Stäbchen zu finden. Abgesehen von der chemischen Zusammensetzung der Materialien, könnten die vorhandene freie Oberflächenenergie und Mikrorauigkeiten von Bedeutung sein (*Blunden et al.* 1994, *van Dijk et al.* 1987). Unvernetzte Bindungsgruppen der Dentinadhäsive, die eigentlich zum Verbund mit dem Komposit in die Kavität hineinragen, könnten möglicherweise Liganden für die Haftrezeptoren der Mikroorganismen darstellen.

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass der pH-Wert eine Ursache für biologische Effekte dentaler Adhäsivmaterialien darstellt. Vor allem die anaerob lebenden Bakterien wie der *A. viscosus* und *P. gingivalis* wurden durch säurehaltige Materialien stark alteriert. In der Untersuchung zur Plaqueadhäsion stellten sich z.T. gegensätzliche Ergebnisse dar. Nach der Polymerisation scheint der pH-Wert bei Adhäsivmaterialien im Kontakt mit Bakterien nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Die chemische Zusammensetzung des Materials stellt somit ein weiteres wichtiges Kriterium dar. Neben HEMA und TEGDMA sind Inhaltsstoffe wie Glueraldehyd bekannt für ihre gute antibakterielle Wirkung, was die geringere

Adhäsion an Syntac Classic erklären könnte. Die Ergebnisse haben jedoch gezeigt, dass diese Substanz auch stark zelltoxisch wirkt. Folglich sind wachstumshemmende Wirkungen auf Mikroorganismen bei einigen Dentinadhäsiven vorhanden. Sie stellen jedoch entgegen der Aussage der Hersteller keinen Vorteil dar, da sie mit einer Schädigung von Zellen korrelieren.

6.3. Klinische Konsequenz

Bei adhäsiven Restaurationen ist eine antibakterielle Wirkung von Dentinadhäsiven zur Kavitätendesinfektion und langfristig zum Schutz vor Sekundärkaries vorteilhaft. Diese Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass diese positive Eigenschaft bei den derzeitigen Adhäsivmaterialien gleichzeitig toxische Reaktionen von Geweben bedingt. Bei der Wahl des Produktes sollte deshalb auf pH-Wert, lösliche Bestandteile und bedenkliche Inhaltsstoffe geachtet werden.

Außerdem sind durch den Zahnarzt geeignete Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um sich, das Personal und natürlich den Patienten zu schützen (*DENTSPLY DeTrey 2008a, DENTSPLY DeTrey 2008b, Ivoclar Vivadent 2005a, Ivoclar Vivadent 2005b, Ivoclar Vivadent 2005c, Ivoclar Vivadent 2006a, Ivoclar Vivadent 2006b*): Der Zahnarzt und das Personal sollten bei der Verwendung von Dentinadhäsiven Schutzhandschuhe anziehen, damit ein direkter Hautkontakt vermieden wird. Desweiteren sollte der Behandler eine Schutzbrille und Mundschutz tragen, um einer ungewollten Exposition der Schleimhäute vorzubeugen. Der wichtigste Aspekt ist es den Patienten umfassend vor schädigenden Einflüssen zu schützen. Vor allem ein Verschlucken von Material sollte unbedingt verhindert werden, da Verätzungen des Verdauungstraktes auftreten könnten. Aus diesem Grund sollte bei der adhäsiven Restauration das Dentinbonding sparsam verwendet und der Überschuss vorsichtig verblasen werden. Weiterhin sollte zum Schutz der Gingiva und zur optimalen Trockenlegung der Kofferdam genutzt werden. Bei der Therapie der Caries profunda ist eine Exposition der Pulpa mit diesen Materialien durch geeignete Calciumhydroxidpräparate und Unterfüllungszemente zu vermeiden. Eine direkte Überkappung mit adhäsiven Dentalwerkstoffen ist absolut kontraindiziert. Bei Patienten mit bekannten Allergien gegenüber methacrylhaltigen Substanzen und anderen Inhaltsstoffen ist auf die Verwendung von Dentinadhäsiven zu verzichten.

7. Schlussfolgerungen

Das steigende Bewusstsein für Gesundheit und Ästhetik stellt einen entscheidenden Faktor bei der Auswahl eines Füllungsmaterials dar. Nicht allein die Funktion und Stabilität einer Restauration sind für den Patienten wichtig. Durch die Einführung der Komposite und Dentinadhäsive konnte dieser Nachfrage Folge geleistet werden. Die biologische Wirkung dieser Materialien ist jedoch meist unbekannt.

In dieser Untersuchung wurden die Dentinadhäsive Xeno III, AdheSE und das seit 1990 etablierte Syntac Classic auf ihre Biokompatibilität geprüft. Die seit 2007 erhältlichen hydrolysestabile Einf Flaschenadhäsive AdheSE One und Xeno V als Nachfolgeprodukte mit z.T. ähnlicher chemischer Zusammensetzung wie ihre Vorgänger enthalten mehr reizende Inhaltsstoffe als die weiterhin im Handel erhältlichen Präparate AdheSE und Xeno III.

Bei den In vitro-Untersuchungen zur Erfassung der biologischen Wirkung von Dentalwerkstoffen sollten verschiedene Methoden angewendet werden. Ein wichtiges Kriterium stellt der Einfluss auf Zellkulturen und die orale Mikroflora dar. Ein Material welches das Plaquewachstum stimuliert ist genauso unerwünscht wie eines das zellschädigend wirkt. Als Zelllinien kommen vor allem Gingiva- und Pulpafibroblasten in Betracht. Bei der Auswahl der Mikroorganismen sollte ein breites standardisiertes Spektrum an Bakterien und Pilzen verwendet werden. Dabei ist der Schwerpunkt auf kariesassoziierte Keime zu legen.

Zur Untersuchung der Biokompatibilität sind die normierten Prüfverfahren weiter zu entwickeln. Für die Ermittlung zellschädigender Einflüsse eignet sich das in dieser Untersuchung angewandte MTT-Verfahren. Wachstumshemmende Einflüsse sollten an Keimflüssigkulturen untersucht werden, die auch Wachstumsförderung und Stressreaktionen erkennen lassen. Dagegen sollte der weniger sensitive Agardiffusionstest als reguläres Untersuchungsverfahren verlassen werden. Um die Komplexität der In vivo-Verhältnisse zu berücksichtigen, ist die Einführung eines Zahnmodells als Standardmethode zu empfehlen.

Zur sicheren klinischen Anwendung sollte bei der Auswahl des Produkts neben guten chemisch-physikalischen Eigenschaften auf eine hohe biologische Verträglichkeit

geachtet werden. Die derzeit zur Verfügung stehenden Dentinadhäsive mit antibakterieller bzw. kariesprotektiver Wirkung sollten kritisch betrachtet werden. Sie wirken teilweise wachstumshemmend auf Mikroorganismen, können aber gleichzeitig zu einer Schädigung kontaktierender Gewebe führen. Die Beeinflussung zellulärer Strukturen wie Haut und Schleimhaut ist deshalb durch geeignete Schutzmassnahmen zu vermeiden. Bei geringer Restdentinstärke ist außerdem eine Alteration der Pulpa zu erwarten. Eine Abdeckung pulpanahen Dentins, welches eine hohe Permeabilität besitzt, ist demnach zwingend notwendig. Ein direkter Kontakt von Dentinadhäsiven mit Pulpengewebe ist zu vermeiden. Der Zahnarzt sollte bei der Wahl des Dentinadhäsivs auf toxisch unbedenkliche Inhaltsstoffe achten.

Ein inertes bzw. biokompatibles Bondingprodukt ist wünschenswert, aber derzeit noch nicht erhältlich. Die Hersteller sollten bei der Weiterentwicklung der Werkstoffe toxisch bedenkliche, lösliche Komponenten durch umfassend untersuchte, unbedenkliche Inhaltsstoffe ersetzen. Außerdem sollte der stark saure pH-Wert der meisten selbstätzenden Dentinadhäsive zum neutralen Bereich hin erhöht werden. Erstrebenswert wären Materialien mit geringer Beeinflussung des Mikromilieus, guter antibakterieller Wirkung bei geringfügiger Toxizität und optimalen chemisch-physikalischen Eigenschaften.

8. Literatur- und Quellenverzeichnis

1. About I, Camps J, Burger AS, Mitsiadis TA, Butler WT, Franquin JC. 2005. Polymerized bonding agents and the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblast-like cells. *Dent Mater*, 21(2):156-163
2. Accorinte Mde L, Loguercio AD, Reis A, Muench A, de Araujo VC. 2005. Response of human pulp capped with a bonding agent after bleeding control with hemostatic agents. *Oper Dent*, 30(2):147-155
3. Asikainen S, Alaluusua S. 1993. Bacteriology of dental infections. *Eur Heart J*, 14(Suppl K):43-50
4. Atac AS, Cehreli ZC, Sener B. 2001. Antibacterial activity of fifth-generation dentin bonding systems. *J Endod*, 27(12):730-733
5. Bagis YH, Rueggeberg FA. 1997. Mass loss in urethane/TEGDMA- and Bis-GMA/TEGDMA-based resin composites during postcure heating. *Dent Mater*, 13(6):377-380
6. Baseren M, Yazici AR, Ozalp M, Dayangac B. 2005. Antibacterial activity of different generation dentin-bonding systems. *Quintessence Int*, 36(5):339-344
7. Beham G. 1984. Dentinhaftung von Kunststoff-Füllungsmaterialien. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent Report, 3-8
8. Bergmann JE, Gülzow H-J. 1995a. Detection of binding of denatured salivary alpha-amylase to streptococcus sanguis. *Arch Oral Biol*, 40(10):973-974
9. Bergmann JE, Gülzow H-J. 1995b. Isolierung eines anheftungsrelevanten Zellwandproteins von Streptococcus sanguis durch Affinitäts-Techniken. *Dtsch Zahnärztl Z*, 50(12):902-903
10. Bergmann JE, Gülzow H-J, Kopsell R. 1990. Electrophoretic analysis of potential receptors for oral streptococci in human saliva. *Dtsch Zahnärztl Z*, 45(11):733-736
11. Bleischwitz B, Erbsmehl J. 1985. Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkung und Hämolyseaktivität von neuartigen zahnärztlichen Restaurationswerkstoffen sowie ihrer Ausnutzung als Energiequelle für Mikroorganismen [Med Diss]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität
12. Blunck U. 1999. Dentinhaftmittel – Die Behandlung sensibler Zahnhäse mit Adhäsivsystemen. *ZM*, 89(3):244-245

13. Blunck U. 2004. Adhäsivsysteme – Übersicht und Hinweise zur Anwendung. TZB, 14(3):19-28
14. Blunck U, Haller B. 1999. Klassifikation von Bondingsystemen. Quintessenz, 50(10):1021-1033
15. Blunden RE, Oliver RG, O’Kane CO. 1994. Microbial growth on the surface of various orthodontic bonding cements. Br J Orthod, 21(2):125-132
16. Böning K. 1987. Einfluß zahnärztlicher Legierungen auf den azidogenen Stoffwechsel von Streptococcus mutans [Med Diss]. Berlin: Freie Universität Berlin
17. Bouillaguet S, Virgillito M, Wataha J, Ciucchi B, Holz J. 1998. The influence of dentine permeability on cytotoxicity of four dentine bonding systems, in vitro. J Oral Rehabil, 25(1):45-51
18. Braden M, Davy KW. 1986. Water absorption characteristics of some unfilled resins. Biomaterials, 7(6):474-475
19. Brandis H, Köhler W, Eggert HJ, Pulverer G. 1994. Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Siebte Aufl. Stuttgart, Jena: Gustav-Fischer-Verlag
20. Brenner C. 2004. Die Adhäsivtechnik – effizient und einfach. ZMK, 20(5):304-316
21. Buonocore MG. 1955. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res, 34(6):849-853
22. Camps J, Déjou J, Rémusat M, About I. 2000. Factors influencing pulpal response to cavity restorations. Dent Mater, 16(6):432-440
23. Camps J, Tardieu C, Dejou J, Franquin JC, Ladaïque P, Rieu R. 1997. In vitro cytotoxicity of dental adhesive systems under simulated pulpal pressure. Dent Mater, 13(1):34-42
24. Cehreli ZC, Stephan A, Sener B. 2003. Antimicrobial properties of self-etching primer-bonding systems. Oper Dent, 28(2):143-148
25. Cehreli ZC, Turgut M, Olmez S, Dagdeviren A, Atilla P. 2000. Short term human primary pulpal response after direct pulp capping with fourth-generation dentin adhesives. J Clin Pediatr Dent, 25(1):65-71
26. Chen RS, Liuiw CC, Tseng WY, Hong CY, Hsieh CC, Jeng JH. 2001. The effect of curing light intensity on the cytotoxicity of a dentin bonding agent. Oper Dent, 26(5):505-510

27. Chen RS, Liu CC, Tseng WY, Jeng JH, Lin CP. 2003. Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells. *J Dent*, 31(3):223-229
28. Costa CAS, Giro EM, Nascimento ABL, Teixeira HM. 2003. Short-term evaluation of the pulpo-dentin complex response to a resin-modified glass-ionomer cement and a bonding agent applied in deep cavities. *Dent Mater*, 19(8):739-746
29. Costa CAS, Nascimento ABL, Teixeira HM, Fontana UF. 2001. Response of human pulps capped with a self-etching adhesive system. *Dent Mater*, 17(3):230-240
30. Costa CAS, Vaerten MA, Edwards CA, Hanks CT. 1994. Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. *Dent Mater*, 15(6):453-462
31. DENTSPLY DeTrey. 2002. Wissenschaftliche Dokumentation Xeno[®] III [Produktbroschüre]. Konstanz: DENTSPLY DeTrey GmbH – Klinische Forschung
32. DENTSPLY DeTrey. 2008a. Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31 [Sicherheitsdatenblatt Xeno[®] III Liquid A]. Konstanz: DENTSPLY DeTrey GmbH
33. DENTSPLY DeTrey. 2008b. Sicherheitsdatenblatt gemäß 1907/2006/EG, Artikel 31 [Sicherheitsdatenblatt Xeno[®] III Liquid B]. Konstanz: DENTSPLY DeTrey GmbH
34. Dierig M. 2000. Der Einfluß temporärer Kronen- und Brückenwerkstoffe auf das Wachstumsverhalten verschiedener Mikroorganismen: Klinische und experimentelle Untersuchungen [Zahnmed Diss]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität
35. Duda J. 2005. Wirkung von Chlorhexidin auf eine Mischflora oraler Bakterien im Biofilm [Zahnmed Diss]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität
36. Eisenbrand G, Metzler M. 2001. Toxikologie für Naturwissenschaftler und Mediziner. Erste Aufl. Stuttgart: Thieme Verlag
37. Emilson CG, Bergenholtz G. 1993. Antibacterial activity of dentinal bonding agents. *Quintessence Int*, 24(7):511-515
38. Engelhardt JP. 1970. Zahnärztliche Kunststoffe. Untersuchungen zur Frage ihrer Beständigkeit gegenüber Mikroorganismen [Med Habil]. Düsseldorf

39. Ergucu Z, Hiller KA, Schmalz G. 2005. Influence of dentin on the effectiveness of antibacterial agents. *J Endod*, 31(2):124-129
40. Ernst CP. 2001. Was Sie schon immer über Dentinadhäsive wissen wollten. *ZMK*, 17(5):254-269
41. Ferracane JL. 1994. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil*, 21(4):441-452
42. Feuerstein O, Matalon S, Slutzky H, Weiss EI. 2007. Antibacterial properties of self-etching dental adhesive systems. *J Am Dent Assoc*, 138(3):349-354
43. Finger W. 1988. Begriffsbestimmungen der Werkstoffprüfung. In: Eichner K, Hrsg. *Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung*, Band 1: Grundlagen und Verarbeitung. Fünfte Aufl. Heidelberg: Hüthig
44. Fraga RC, Siqueira Jr JF, de Uzeda M. 1996. In vitro evaluation of antibacterial effects of photo-cured glass ionomer liners and dentin bonding agents during setting. *J Prosthet Dent*, 76(5):483-486
45. Frankenberger R. 2002. Zur Dauerhaftigkeit des Dentinverbundes. *Dtsch Zahnärztl Z*, 57(3):154-171
46. Frankenberger R, Strobel WO, Taschner M, Krämer N, Petschelt A. 2004. Total Etch vs. Self Etch – Evaluation klassischer Parameter unterschiedlicher Adhäsivsysteme. *ZWR*, 113(5):188-196
47. Freund M, Munksgaard EC. 1990. Enzymatic degradation of Bis-GMA/TEGDMA-polymers causing decreased microhardness and greater wear in vivo. *Scand J Dent Res*, 98(4):35-355
48. Friedl KH, Schmalz G, Hiller KA. 1992. Flüssigkeitskulturen zur Prüfung der Wirkung zahnärztlicher Werkstoffe auf das Bakterienwachstum. *Dtsch Zahnärztl Z*, 47(12):826-831
49. Fuhrmann GF. 1999. *Allgemeine Toxikologie für Chemiker*. Zweite Aufl. Leipzig: Verlag B.G. Teubner
50. Galler K, Hiller KA, Ettl T, Schmalz G. 2005. Selective influence of dentin thickness upon cytotoxicity of dentin contacting materials. *J Endod*, 31(5):396-399
51. Gerzina TM, Hume WR. 1996. Diffusion of monomers from bonding resin – resin composite combinations through dentine in vitro. *J Dent*, 24(1-2):125-128

52. Geurtsen W. 1998. Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements. *Eur J Oral Sci*, 106(2):687-695
53. Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. 1998. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers / additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J Biomed Mater Res*, 41(3):474-480
54. Glockmann E, Hoyer I. 2004. Adhäsive Restauration – Standortbestimmung zu Kompositmaterialien und Bondingsystemen [Zahnmedizinische Symposienreihen: wissen-schafft-erfolg am 21.04.2004]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität
55. Göpferich. 1996. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials*, 17(2):103-114
56. Grobler SR, Olivier A, Moodley D, Kotze TW. 2004. Cytotoxicity of two concentrations of a dentin bonding agent on mouse 3T3 and human pulp fibroblast cell-lines. *SADJ*, 59(9):368-372
57. Hagger O. 1948. Neue Katalysatoren zur Polymerisation der Äthene bei Raumtemperatur. *Helv Chim Acta*, 31(6):1624-1630
58. Haller B. 1994. Mechanismus und Wirksamkeit von Dentinhaftvermittlern. *Dtsch Zahnärztl Z*, 49(10):750-759
59. Haller B, Blunck U. 2003. Übersicht und Wertung der aktuellen Bondingsysteme. *ZM*, 93(7):808-818
60. Haller B, Fritzenschaft A. 1999. Dentinhaftung von Ein- und Mehrkomponenten-Haftvermittlern bei Dry und Moist Bonding in vitro. *Dtsch Zahnärztl Z*, 54(4):225-230
61. Hamid A, Hume WR. 1997. The effect of dentine thickness on diffusion of resin monomers in vitro. *J Oral Rehab*, 24(1):20-25
62. Hanks CT, Wataha JC, Parsell RR, Strawn SE. 1992. Delineation of cytotoxic concentrations of two dentin bonding agents in vitro. *J Endod*, 18(12):589-596
63. Hanks CT, Wataha JC, Parsell RR, Strawn SE, Fat JC. 1994. Permeability of biological and synthetic molecules through dentine. *J Oral Rehabil*, 21(4):475-487
64. Hannig M. 1994. Bildung, Funktion und Bedeutung der Pellikel – II. Auswirkungen zahnärztlicher Maßnahmen und dentaler Materialien auf die Pellikelbildung. *Oral Prophyl*, 16(3):102-105

65. Hansel C, Leyhausen G, Mai UEH, Geurtsen W. 1998. Effects of various resin composite (co)monomers and extracts on two caries-associated microorganisms in vitro. *J Dent Res*, 77(1):60-67
66. Harper DS, Loesche WJ. 1984. Growth and acid tolerance of human dental plaque bacteria. *Arch Oral Biol*, 29(10):843-848
67. Hashieh IA, Cosset A, Franquin JC, Camps J. 1999. In vitro cytotoxicity of one-step dentin bonding systems. *J Dent*, 26(5-6):473-477
68. Hebling J, Giro EM, Costa CAS. 1999. Human pulp response after an adhesive system application in deep cavities. *J Dent*, 27(8):557-564
69. Heil TL, Volkmann KR, Wataha JC, Lockwood PE. 2002. Human peripheral blood monocytes versus THP-1 monocytes for in vitro biocompatibility testing of dental material components. *J Oral Rehabil*, 29(5):401-407
70. Hellwig E, Klimek J, Attin T. 2003. Einführung in die Zahnerhaltung. Dritte Aufl. München, Jena: Urban & Fischer Verlag
71. Hermann HW. 1985. Biologie in der Mundhöhle. In: Eichner K, Hrsg. Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung, Band 2: Werkstoffe unter klinischen Aspekten. Fünfte Aufl. Heidelberg: Hüthig
72. Herrmann D. 1985. Unerwünschte Einflüsse durch zahnärztliche Werkstoffe. In: Eichner K, Hrsg. Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung, Band 2: Werkstoffe unter klinischen Aspekten. Fünfte Aufl. Heidelberg: Hüthig
73. Herrera M, Carrion P, Bravo M, Castillo A. 2000. Antibacterial activity of four dentin bonding systems. *Int J Antimicrob Agents*, 15(4):305-309
74. Huang FM, Chang YC. 2002. Cytotoxicity of dentine-bonding agents on human pulp cells in vitro. *Int Endod J*, 35(11):905-909
75. Hugo B, Stassinakis A, Hotz P, Klaiber B. 1996. Die Entwicklung einer neuen Präparationsmethode zur defektbezogenen Versorgung approximaler Karies. *Dtsch Zahnärztl Z*, 51(9):518-523
76. Imazato S. 2003. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dent Mater*, 19(6):449-457
77. Imazato S, Imai T, Ebisu S. 1998. Antibacterial activity of proprietary self-etching primers. *Am J Dent*, 11(3):106-108
78. Imazato S, Kuramoto A, Kaneko T, Ebisu S, Russell RR. 2002. Comparison of antibacterial activity of simplified adhesive systems. *Am J Dent*, 15(6):356-360

79. Imazato S, Tarumi H, Ebi N, Ebisu S. 2000. Cytotoxic effects of composite restorations employing self-etching primers or experimental antibacterial primers. *J Dent*, 28(1):61-67
80. Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Sano H, Van Meerbeek G. 2001. Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to dentin. *J Adhes Dent*, 3(3):237-245
81. Issa Y, Watts DC, Brunton PA, Waters CM, Duxbury AJ. 2004. Resin composite monomers alter MTT and LDH activity of human gingival fibroblasts in vitro. *Dent Mater*, 20(1):12-20
82. Itthagarun A, Tay FR, Pashley DH, Wefel JS, Garcia-Godoy F, Wei SH. 2004. Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part III. Evidence from fluid conductance and artificial caries inhibition. *Am J Dent*, 17(6):394-400
83. Ivoclar Vivadent. 1998. Wissenschaftliche Dokumentation Syntac[®]. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent AG – Wissenschaftlicher Dienst
84. Ivoclar Vivadent. 2002. Wissenschaftliche Dokumentation AdheSE[®]. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent AG – Wissenschaftlicher Dienst
85. Ivoclar Vivadent. 2004. Wissenschaftliche Dokumentation AdheSE[®] / AdheSE[®] ACTIVATOR. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent AG – Wissenschaftlicher Dienst
86. Ivoclar Vivadent. 2005a. EU-Sicherheitsdatenblatt AdheSE Bonding [Sicherheitsdatenblatt AdheSE[®] Bonding]. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent AG
87. Ivoclar Vivadent. 2005b. EU-Sicherheitsdatenblatt Syntac Adhesive [Sicherheitsdatenblatt Syntac[®] Adhesive]. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent AG
88. Ivoclar Vivadent. 2005c. EU-Sicherheitsdatenblatt Heliobond [Sicherheitsdatenblatt Heliobond[®]]. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent AG
89. Ivoclar Vivadent. 2006a. EU-Sicherheitsdatenblatt AdheSE Primer [Sicherheitsdatenblatt AdheSE[®] Primer]. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent AG

90. Ivoclar Vivadent. 2006b. EU-Sicherheitsdatenblatt Syntac Primer [Sicherheitsdatenblatt Syntac[®] Primer]. Schaan, Liechtenstein: Ivoclar Vivadent AG
91. Janda R. 1988a. Die Konditionierung der Zahnhartsubstanzen mit Säuren und Komplexbildnern, Teil I: Der Schmelz. Philip J Restaur Zahnmed, 5(4):210-220
92. Janda R. 1988b. Die Konditionierung der Zahnhartsubstanzen mit Säuren und Komplexbildnern, Teil II: Das Dentin. Philip J Restaur Zahnmed, 5(5):265-274
93. Janda R. 2007. Toxikologie der polymerisierbaren Füllungsmaterialien. DFZ, 51(10):56-63
94. Jendresen MD, Glantz PO. 1981. Clinical adhesiveness of selected dental materials: an in vivo study. Acta Odontol Scand, 39(1):39-45
95. Kaga M, Noda M, Ferracane JL, Nakamura W, Oguchi H, Sano H. 2001. The in vitro cytotoxicity of eluates from dentin bonding resins and their effect on tyrosine phosphorylation of L929 cells. Dent Mater, 17(4):333-339
96. Karanika-Kouma A, Dionysopoulos P, Koliniotou-Koubia E, Kolokotronis A. 2001. Antibacterial properties of dentin bonding systems, polyacid-modified composite resins and composite resins. J Oral Rehabil, 28(2):157-160
97. Kawai K, Tsuchitani Y. 2000. Effects of resin composite components on glycosyltransferase of cariogenic bacterium. J Biomed Mater Res, 51(1):123-127
98. Kawai K, Urano M. 2001. Adherence of plaque components to different restorative materials. Oper Dent, 26(4):396-400
99. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. 2001. Medizinische Mikrobiologie. Zehnte Aufl. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag
100. Klaiber B, Grüner W, Bredt W. 1982. Antimikrobielle Wirksamkeit von Wurzelfüllmaterialien, provisorischen Befestigungszementen und Unterfüllungs- bzw. Überkappungsmitteln. Dtsch Zahnärztl Z, 37(5):448-451
101. Klötzer WT. 1976. Reactions of the gingiva to dental materials. Rev Belge Med Dent, 31(3):253-276
102. Klötzer WT, Reuling N. 1990. Biokompatibilität zahnärztlicher Materialien: Teil II. Materialien mit Schleimhautkontakt. Dtsch Zahnärztl Z, 45(8):437-442

103. Klötzer WT, Schmalz G. 1986. DIN Vornorm 13930: Biologische Prüfung von Dentalwerkstoffen. Teil II. Anwendungsprüfungen. Vergleichbare Normen. Dtsch Zahnärztl Z, 41(12):1248-1252
104. Koliniotou-Koubia E, Dionysopoulos P, Koulaouzidou EA, Kortsaris AH, Papadogiannis Y. 2001. In vitro cytotoxicity of six dentin bonding. J Oral Rehabil, 28(10):971-975
105. Koliniotou-Koumpia E, Tziafas D. 2005. Pulpal responses following direct pulp capping of healthy dog teeth with dentine adhesive systems. J Dent, 33(8):639-647
106. Körber K, Ludwig K. 1993. Zahnärztliche Werkstoffkunde und Technologie. Zweite Aufl. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag
107. Kramer A, Netuschil L, Simonis A. 1990. Plaque accumulation on various veneering resins – a clinical study. Dtsch Zanärztl Z, 45(8):82-484
108. Larsen IB, Freund M, Munksgaard EC. 1992. Change in surface hardness of Bis-GMA/TEGDMA-polymer due to enzymatic action. J Dent Res, 71(11):1851-1853
109. Lee SY, Greener EH, Menis DL. 1995. Detection of leached moieties from dental composites in fluids simulating food and saliva. Dent Mater, 11(6):348-353
110. Leinfelder KF. 1996. A conservative approach to placing posterior composite resin restorations. J Am Dent Assoc, 127(6):743-748
111. Löffler G, Petrides PE. 1998. Biochemie und Pathobiochemie. Sechste Aufl. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag
112. Mantellini MG, Botero T, Yaman P, Dennison JB, Hanks CT, Nor JE. 2003. Adhesive resin induces apoptosis and cell-cycle arrest of pulp cells. J Dent Res, 82(8):592-596
113. Meiers JC, Miller GA. 1996. Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers, and polyacid-modified composite resins. Oper Dent, 21(6):257-264
114. Miyazaki M, Sato M, Onose H, Moore BK. 1998. Influence of thermal cycling on dentin bond strength of two-step bonding systems. Am J Dent, 11(3):118-122

115. Molgatini S, Abate PF, Negroni MB, Macch RL, Gonzalez MI. 1993. Bacterial inhibition produced by substances for dentin pretreatment. *Acta Odontol Latinoam*, 7(2):3-11
116. Moodley D, Grobler SR, Olivier A. 2005. Cytotoxicity of a dentine bonding agent on four different cell-lines. *SADJ*, 60(6):234-236
117. Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65(1-2):55-63
118. Moszner N, Zeuner F, Rumphorst A, Salz U, Rheinberger V. 2001. Hydrolyse stabile Phosphonsäuremonomere als Dentinhaftvermittler. *Dent Prax*, 18(3-4):105-112
119. Nair RG, Samaranayake LP. 1996. The effect of oral commensal bacteria on candidal adhesion to denture acrylic surfaces. An in vitro study. *APMIS*, 104(5):339-349
120. Neupert G, Welker D. 1976. Comparative studies on the cytotoxic effect of composite filling materials and silicate cements. *Dtsch Zahnärztl Z*, 31(12):919-923
121. Neupert G, Welker D. 1980. Toxicity evaluation of water soluble substances of dental materials by means of cell population in vitro. *Arch Toxicol Suppl*, 4:410-412
122. Newman F, Beeley JA, MacFarlane TW, Galbraith J, Buchanan L. 1993. Salivary protein interactions with oral bacteria: an electrophoretic study. *Electrophoresis*, 14(12):1322-1327
123. Noda M, Wataha JC, Lewis JB, Kaga M, Lockwood PE, Messer RL, Sano H. 2005. Dental adhesive compounds alter glutathione levels but not glutathione redox balance in human THP-1 monocytic cells. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 73(2):308-314
124. Oehring H, Beleites E, Straube E, Völker U, Müller R. 1992. Die Einwirkung von Biomaterialien und anderer Werkstoffe auf das Wachstum einiger aerober Bakterienspezies in vitro. *Zentralbl Hyg Umweltmed*, 192(5):462-472
125. Ohmori K, Maeda N, Kohno A. 1999. Evaluation of antibacterial activity of three dentin primers using an in vitro tooth model. *Oper Dent*, 24(5):279-285

126. Ortengren U, Wellendorf H, Karlsson S, Ruyter IE. 2001. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in aqueous environment. *J Oral Rehabil*, 28(12):1106-1115
127. Orstavik D, Arneberg P, Valderhaug J. 1981. Bacterial growth on dental restorative materials in mucosal contact. *Acta Odontol Scand*, 39(5):267-274
128. Orstavik D, Hensten-Pettersen A. 1978. Antibacterial activity of tooth-colored dental restorative materials. *J Dent Res*, 57(2):171-174
129. Ozer F, Karakaya S, Unlu N, Ergani O, Kav K, Imazato S. 2003. Comparison of antibacterial activity of two dentin bonding systems using agar well technique and tooth cavity model. *J Dent*, 31(2):111-116
130. Pioch T, Dörfer C, Staehle HJ. 1998. Schmelz-Dentin-Adhäsive. In: Meiners H, Lehmann KM, Hrsg. *Klinische Materialkunde für Zahnärzte*. Erste Aufl. München, Wien: Carl Hanser Verlag
131. Prati C, Fava F, di Gioia D, Selighini M, Pashley DH. 1993. Antibacterial effectiveness of dentin bonding systems. *Dent Mater*, 9(6):338-343
132. Pelka M. 1999. GLUMA® Desensitizer – Einsatzgebiete und klinische Anwendung. *ZMK*, 15(11):728-732
133. Quinlan CA, Zisterer DM, Tipton KF, O'Sullivan MI. 2002. In vitro cytotoxicity of a composite resin and compomer. *Int Endod J*, 35(1):47-55
134. Ratanasathien S, Wataha JC, Hanks CT, Dennison JB. 1995. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. *J Dent Res*, 74(9):1602-1606
135. Rathke A. 2002. Klinische Anwendung von Dentinadhäsiv-Systemen. *Dent Prax*, 19(7-8):195-216
136. Reichenbach M. 2003. Dentinadhäsive. Neuentwicklungen, Überblick und Bewertung [Vortrag am 03.07.2003]. Jena:Friedrich-Schiller-Universität
137. Roll EB, Dahl JE, Runningen G, Morisbak E. 2004. In vitro cell death induced by irradiation and chemicals relevant for dental applications; dose-response and potentiation effects. *Eur J Oral Sci*, 112(3):273-279
138. Schäfer E. 1999. Geschichtliche Entwicklung, Klassifizierung und Haftungsmechanismen der Dentinadhäsive, Teil 1: Grundlagen der Dentinadhäsion und Adhäsive der 1. bis 3. Generation. *ZWR*, 108(4):218-225

139. Schedle A, Franz A, Rausch-Fan X, Spittler A, Lucas T, Samorapoompichit P, Sperr W, Boltz-Nitulescu G. 1998. Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substances, compomers and cements. *Dent Mater*, 14(6):429-440
140. Scherer W, Cooper H, Antonelli J. 1990. Antimicrobial properties of dental dentin-enamel adhesives. *J Esthet Dent*, 2(5):140-141
141. Schmalz G. 1977a. Der Einfluss verschiedener Frontzahnfüllungsmaterialien auf das In-vitro-Wachstum von *Streptococcus mutans*. *Dtsch Zahnärztl Z*, 32(8):575-579
142. Schmalz G. 1977b. Über die Empfindlichkeit verschiedener In-vitro-Testsysteme bei der biologischen Materialprüfung. *Dtsch Zahnärztl Z*, 32(11):878-879
143. Schmalz G. 1994. The use of cell cultures for toxicity testing of dental materials – advantages and limitations. *J Dent*, 22(Suppl 2):6-11
144. Schmalz G, Ergucu Z, Hiller KA. 2004. Effect of dentin on the antibacterial activity of dentin bonding agents. *J Endod*, 30(5):352-358
145. Schmalz G, Schuster U, Koch A, Schweikl H. 2002. Cytotoxicity of low pH dentin-bonding agents in a dentinbarrier test in vitro. *J Endod*, 28(3):188-192
146. Schmidlin PR, Zehnder M, Göhring TN, Tuomas M. 2004. Glutaraldehyde in bonding systems disinfect dentin in vitro. *J Adhes Dent*, 6(1):61-64
147. Schmidlin OA, Zehnder M, Schmidlin PR. 2003. Effectiveness of dentine bonding agents against cariogenic bacteria in vitro: a comparison of two methods. *Oral Microbiol Immunol*, 18(3):140-143
148. Schulein TM, Chan DC, Reinhardt JW. 1986. Rinsing times for a gel etchant related to enamel-composite bond strength. *Gen Dent*, 34(4):296-298
149. Schweikl H, Schmalz G. 1996. Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines. *Eur J Oral Sci*, 104(3):292-299
150. Sideridou ID, Achilias DS. 2005. Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 74(1):617-626
151. Sideriou I, Tserki V, Papanastasiou G. 2003. Study of water absorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials*, 24(4):655-665

152. Slutzky H, Matalon S, Weiss EI. 2004. Antibacterial surface properties of polymerized single-bottle bonding agents: part II. *Quintessence Int*, 35(4):275-279
153. Soderholm KJ, Zigan M, Ragan M, Fischlschweiger W, Bergman M. 1984. Hydrolytic degradation of dental composites. *J Dent Res*, 63(10):1248-1254
154. Spagnuolo G, Annunziata M, Rengo S. 2003. Cytotoxicity and oxidative stress caused by dental adhesive systems cured with halogen and LED lights. *Clin Oral Investig*, 8(2):81-85
155. Spagnuolo G, D'Anto V, Cosentino C, Schmalz G, Schweikl H, Rengo S. 2006. Effect of N-acetyl-L-cysteine on ROS production and cell death caused by HEMA in human primary gingival fibroblasts. *Biomaterials*, 27(9):1803-1809
156. Spagnuolo G, Galler K, Schmalz G, Cosentino C, Rengo S, Schweikl H. 2004. Inhibition of Phosphatidylinositol 3-Kinase amplifies TEGDMA-induced apoptosis in primary human pulp cells. *J Dent Res*, 83(9):703-707
157. Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W. 1998. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *J Dent*, 26(2):137-145
158. Subay RK, Demirci M. 2005. Pulp tissue reactions to a dentin bonding agent as a direct capping agent. *J Endod*, 31(3):201-204
159. Sutter VL. 1984. Anaerobes as normal oral flora. *Rev Infect Dis*, 6(Suppl 1):S62-66
160. Szep S, Kunkel A, Ronge K, Heidemann D. 2002. Cytotoxicity of modern dentin adhesives – in vitro testing on gingival fibroblasts. *J Biomed Mater Res*, 63(1):53-60
161. Tanaka K, Taira M, Shintani H, Wakasa K, Yamaki M. 1991. Residual monomers (TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *J Oral Rehabil*, 18(4):353-362
162. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. 2002. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent*, 30(7-8):371-382
163. Turkun LS, Ates M, Turkun M, Uzer E. 2005. Antibacterial activity of two adhesive systems using various microbiological methods. *J Adhes Dent*, 7(4):315-320

164. van Dijk J, Herkstroter F, Busscher H, Weerkamp A, Jansen H, Arends J. 1987. Surface-free energy and bacterial adhesion. An in vivo study in beagle dogs. *J Clin Periodontol*, 14(5):300-304
165. van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. 1994. Dentinhaftung: Mechanismen und klinische Resultate. *Dtsch Zahnärztl Z*, 49(12):977-984
166. van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. 1992. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res*, 71(8):1530-1540
167. van Meerbeek B, Yoshida Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, Vanherle G, Wakasa K, Pashley DH. 1999. Hybridization effectiveness of a two-step versus a three-step smear layer removing adhesive system examined correlatively by TEM and AFM. *J Adhes Dent*, 1(1):7-23
168. van Nieuw Amerongen A. 1991. Influence of saliva on plaque development. *Ned Tijdschr Tandheelkd*, 98(3):92-93
169. Viohl J. 1988. Normen für zahnärztliche Werkstoffe. In: Eichner K, Hrsg. *Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung*, Band 1: Grundlagen und Verarbeitung. Fünfte Aufl. Heidelberg: Hüthig
170. Wataha JC, Craig RG, Hanks CT. 1992. Precision of and new methods for testing in vitro alloy cytotoxicity. *Dent Mater*, 8(1):65-70
171. Wataha JC, Rueggeberg FA, Lapp CA, Lewis, Lockwood PE, Ergle JW, Mettenburg DJ. 1999. In vitro cytotoxicity of resin-containing restorative materials after aging in artificial saliva. *Clin Oral Invest*, 3(3):144-149
172. Weber T. 2003. *Memorix Zahnmedizin*. Zweite Aufl. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag
173. Weber H, Netuschil L. 1992. Biokompatibilität und Plaqueswachstum bei unterschiedlichen Restaurationsmaterialien. *Dtsch Zahnärztl Z*, 47(5):278-281
174. Weinmann W, Thalacker C, Guggenberger R. 2005. Siloranes in dental composites. *Dent Mater*, 21(1):68-74
175. Welker D. 1996. Die adhäsive Restauration – eine besondere zahnärztliche Leistung. *TZB*, 6(11):404-407
176. Welker D, Neupert G, Oehring H. 1986. Aspekte der Toxizitätsprüfung stomatologischer Werkstoffe. *Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl*, 74(7):699-705

177. Welker D, Oehring H, Bleischwitz B, Erbsmehl J. 1985. Experimentelle Untersuchungen zur Beeinflussung aerober Bakterienspezies und *Candida albicans* durch zahnärztlich-restaurative Werkstoffe. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 95(5):412-419
178. Welker D, Oehring H, Erbsmehl J, Bleischwitz B. 1984. Antimikrobielle Eigenschaften zahnärztlich-restaurativer Werkstoffe. *Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl*, 72(4):291-304
179. Wirz J, Nigg N, Schmidli F. 1995. Moderne Provisorienkunststoffe. Teil I: Materialübersicht und Untersuchungsmethoden. *Quintessenz*, 46(1):83-91
180. Xiao X, Yang M, Zhang P, Hu L, Xia C. 1993. The distribution of normal oral flora in 49 healthy children and juvenile. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 24(3):299-302
181. Yap AUJ, Lee HK, Sabapathy R. 2000. Release of methacrylic acid from dental composites. *Dent Mater*, 16(3):172-179
182. Zhao K, Cheng XR, Chao YL, Li ZA, Han GL. 2004. Laboratory evaluation of a new denture adhesive. *Dent Mater*, 20(5):419-424

9. Anhang

9.1. Messwerte und Ableitungen

Tabelle 15: Reaktion von Gingivafibroblasten nach Inkubation mit Dentinadhäsiven über 2 h

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	Extinktion			m	s	t-Test	
		Wert A	Wert B	Wert C				
Xeno III	10,0 % (1:10)	0,084	0,064	0,066	0,071	0,011	0,021	
	5,0 % (1:20)	0,065	0,066	0,052	0,061	0,008	0,001	
	2,5 % (1:40)	0,047	0,056	0,057	0,053	0,006	<0,001	
	1,25 % (1:80)	0,091	0,086	0,091	0,089	0,003	0,404	
	0,63 % (1:160)	0,084	0,123	0,079	0,095	0,024	0,182	
	0,31 % (1:320)	0,112	0,116	0,105	0,111	0,006	0,002	
	0,16 % (1:640)	0,089	0,100	0,110	0,100	0,011	0,060	
	AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0,050	0,046	0,046	0,047	0,002	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,048	0,049	0,047	0,048	0,001	<0,001	
	2,5 % (1:40)	0,053	0,051	0,048	0,051	0,003	<0,001	
	1,25 % (1:80)	0,050	0,049	0,044	0,048	0,003	<0,001	
	0,63 % (1:160)	0,058	0,050	0,054	0,054	0,004	<0,001	
	0,31 % (1:320)	0,140	0,114	0,128	0,127	0,013	<0,001	
	0,16 % (1:640)	0,124	0,125	0,125	0,125	0,001	<0,001	
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	0,046	0,066	0,079	0,064	0,017	0,003	
		5,0 % (1:20)	0,049	0,062	0,074	0,062	0,013	0,001
		2,5 % (1:40)	0,055	0,052	0,068	0,058	0,009	<0,001
		1,25 % (1:80)	0,051	0,051	0,078	0,060	0,016	0,001
		0,63 % (1:160)	0,131	0,122	0,160	0,138	0,020	<0,001
		0,31 % (1:320)	0,111	0,109	0,116	0,112	0,004	0,001
		0,16 % (1:640)	0,106	0,097	0,111	0,105	0,007	0,015
	Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0,073	0,068	0,101	0,081	0,018	0,197
	5,0 % (1:20)	0,148	0,185	0,157	0,163	0,019	<0,001	
	2,5 % (1:40)	0,067	0,073	0,057	0,066	0,008	0,003	
	1,25 % (1:80)	0,147	0,147	0,133	0,142	0,008	<0,001	
	0,63 % (1:160)	0,133	0,113	0,151	0,132	0,019	<0,001	
	0,31 % (1:320)	0,110	0,106	0,113	0,110	0,004	0,003	
	0,16 % (1:640)	0,106	0,102	0,099	0,102	0,004	0,027	
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0,144	0,134	0,100	0,126	0,023	<0,001	
		5,0 % (1:20)	0,136	0,158	0,176	0,157	0,020	<0,001
		2,5 % (1:40)	0,113	0,119	0,133	0,122	0,010	<0,001
		1,25 % (1:80)	0,089	0,100	0,098	0,096	0,006	0,141
		0,63 % (1:160)	0,083	0,077	0,078	0,079	0,003	0,137
		0,31 % (1:320)	0,072	0,043	0,075	0,063	0,018	0,003
		0,16 % (1:640)	0,060	0,045	0,074	0,060	0,015	0,001

Heliobond	10,0 % (1:10)	0,111	0,086	0,110	0,102	0,014	0,033
	5,0 % (1:20)	0,090	0,096	0,056	0,081	0,022	0,205
	2,5 % (1:40)	0,097	0,091	0,094	0,094	0,003	0,193
	1,25 % (1:80)	0,100	0,096	0,097	0,098	0,002	0,089
	0,63 % (1:160)	0,083	0,099	0,105	0,096	0,011	0,147
	0,31 % (1:320)	0,140	0,094	0,101	0,112	0,025	0,004
	0,16 % (1:640)	0,139	0,090	0,094	0,108	0,027	0,015
HEMA	10,0 % (1:10)	0,045	0,046	0,059	0,050	0,008	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,046	0,048	0,060	0,051	0,008	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,048	0,049	0,061	0,053	0,007	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,048	0,050	0,060	0,053	0,006	<0,001
	0,63 % (1:160)	0,054	0,068	0,064	0,062	0,007	0,001
	0,31 % (1:320)	0,099	0,100	0,120	0,106	0,012	0,010
	0,16 % (1:640)	0,104	0,111	0,124	0,113	0,010	0,001
TEGDMA	10,0 % (1:10)	0,372	0,149	0,501	0,341	0,178	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,432	0,432	0,560	0,475	0,074	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,548	0,311	0,411	0,423	0,119	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,058	0,283	0,252	0,198	0,122	<0,001
	0,63 % (1:160)	0,059	0,368	0,049	0,159	0,181	0,018
	0,31 % (1:320)	0,126	0,117	0,103	0,115	0,012	0,001
	0,16 % (1:640)	0,123	0,092	0,077	0,097	0,023	0,126
Negativkontrolle							
		0,084	0,085	0,106	0,088	0,012	
		0,099	0,087	0,089			
		0,099	0,089	0,102			
		0,070	0,082	0,064			
		0,083	0,084	0,080			
		0,119	0,086	0,081			
		0,095	0,092	0,095			
		0,087	0,077	0,066			

Tabelle 16: Reaktionen von Gingivafibroblasten nach Inkubation mit Dentinadhäsiven über 18 h

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	Extinktion			m	s	t-Test
		Wert A	Wert B	Wert C			
Xeno III	10,0 % (1:10)	0,074	0,059	0,068	0,067	0,008	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,075	0,060	0,070	0,068	0,008	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,085	0,110	0,082	0,092	0,015	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,147	0,135	0,145	0,142	0,006	0,011
	0,63 % (1:160)	0,156	0,194	0,173	0,174	0,019	0,234
	0,31 % (1:320)	0,177	0,224	0,221	0,207	0,026	0,153
	0,16 % (1:640)	0,186	0,211	0,214	0,204	0,015	0,197
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0,050	0,053	0,047	0,050	0,003	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,050	0,047	0,044	0,047	0,003	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,050	0,050	0,050	0,050	0	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,054	0,052	0,049	0,052	0,003	<0,001
	0,63 % (1:160)	0,153	0,063	0,060	0,092	0,053	<0,001
	0,31 % (1:320)	0,265	0,259	0,192	0,239	0,041	0,008
	0,16 % (1:640)	0,184	0,262	0,218	0,221	0,039	0,049
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	0,057	0,130	0,089	0,092	0,037	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,057	0,060	0,090	0,069	0,018	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,051	0,055	0,087	0,064	0,020	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,054	0,050	0,081	0,062	0,017	<0,001
	0,63 % (1:160)	0,149	0,174	0,218	0,180	0,035	0,356
	0,31 % (1:320)	0,206	0,174	0,186	0,189	0,016	0,476
	0,16 % (1:640)	0,186	0,188	0,183	0,186	0,003	0,460
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0,085	0,111	0,091	0,096	0,014	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,073	0,082	0,084	0,080	0,006	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,058	0,064	0,054	0,059	0,005	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,128	0,159	0,128	0,138	0,018	0,007
	0,63 % (1:160)	0,144	0,158	0,162	0,155	0,009	0,044
	0,31 % (1:320)	0,187	0,230	0,165	0,194	0,033	0,370
	0,16 % (1:640)	0,148	0,205	0,184	0,179	0,029	0,329
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0,143	0,134	0,129	0,135	0,007	0,005
	5,0 % (1:20)	0,133	0,126	0,137	0,132	0,006	0,003
	2,5 % (1:40)	0,107	0,095	0,103	0,102	0,006	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,082	0,079	0,082	0,081	0,002	<0,001
	0,63 % (1:160)	0,070	0,074	0,072	0,072	0,002	<0,001
	0,31 % (1:320)	0,066	0,066	0,065	0,066	0,001	<0,001
	0,16 % (1:640)	0,058	0,058	0,058	0,058	0	<0,001

Heliobond	10,0 % (1:10)	0,075	0,072	0,118	0,088	0,026	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,140	0,067	0,107	0,105	0,037	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,126	0,094	0,056	0,092	0,035	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,062	0,094	0,182	0,113	0,062	0,001
	0,63 % (1:160)	0,134	0,250	0,213	0,199	0,059	0,296
	0,31 % (1:320)	0,206	0,231	0,278	0,238	0,037	0,008
	0,16 % (1:640)	0,163	0,183	0,155	0,167	0,014	0,140
HEMA	10,0 % (1:10)	0,059	0,055	0,084	0,066	0,016	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,054	0,053	0,086	0,064	0,019	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,054	0,056	0,083	0,064	0,016	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,052	0,052	0,083	0,062	0,018	<0,001
	0,63 % (1:160)	0,103	0,096	0,144	0,114	0,026	<0,001
	0,31 % (1:320)	0,127	0,138	0,187	0,151	0,032	0,033
	0,16 % (1:640)	0,110	0,110	0,187	0,136	0,044	0,008
TEGDMA	10,0 % (1:10)	0,057	0,062	0,057	0,059	0,003	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,096	0,055	0,055	0,069	0,024	<0,001
	2,5 % (1:40)	0,099	0,055	0,052	0,069	0,026	<0,001
	1,25 % (1:80)	0,059	0,116	0,054	0,076	0,034	<0,001
	0,63 % (1:160)	0,154	0,118	0,207	0,160	0,045	0,088
	0,31 % (1:320)	0,226	0,236	0,225	0,229	0,006	0,017
	0,16 % (1:640)	0,157	0,164	0,198	0,173	0,022	0,223
Negativkontrolle							
		0,201	0,174	0,187	0,088	0,188	
		0,219	0,209	0,176			
		0,163	0,186	0,223			
		0,206	0,211	0,180			
		0,122	0,159	0,175			
		0,162	0,125	0,162			
		0,168	0,204	0,247			
		0,197	0,240	0,205			

Tabelle 17: Reaktionen von Pulpafibroblasten nach Inkubation mit Dentinadhäsiven über 18 h

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	Extinktion			m	s	t-Test	
		Wert A	Wert B	Wert C				
Xeno III	10,0 % (1:10)	0,048	0,053	0,050	0,050	0,003	<0,001	
	5,0 % (1:20)	0,049	0,051	0,047	0,049	0,002	<0,001	
	2,5 % (1:40)	0,131	0,132	0,093	0,119	0,022	0,010	
	1,25 % (1:80)	0,200	0,208	0,172	0,193	0,019	0,184	
	0,63 % (1:160)	0,199	0,193	0,169	0,187	0,016	0,152	
	0,31 % (1:320)	0,207	0,223	0,196	0,209	0,014	0,279	
	0,16 % (1:640)	0,172	0,203	0,162	0,179	0,021	0,118	
	AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0,047	0,045	0,044	0,045	0,002	<0,001
	5,0 % (1:20)	0,048	0,046	0,043	0,046	0,003	<0,001	
	2,5 % (1:40)	0,052	0,049	0,041	0,047	0,006	<0,001	
	1,25 % (1:80)	0,053	0,061	0,047	0,054	0,007	<0,001	
	0,63 % (1:160)	0,180	0,163	0,159	0,167	0,011	0,078	
	0,31 % (1:320)	0,202	0,163	0,158	0,174	0,024	0,101	
	0,16 % (1:640)	0,177	0,145	0,144	0,155	0,019	0,050	
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	0,053	0,054	0,073	0,060	0,011	0,001	
		5,0 % (1:20)	0,050	0,051	0,175	0,092	0,072	0,003
		2,5 % (1:40)	0,177	0,208	0,261	0,215	0,042	0,328
		1,25 % (1:80)	0,235	0,337	0,285	0,286	0,051	0,162
		0,63 % (1:160)	0,249	0,329	0,406	0,328	0,079	0,039
		0,31 % (1:320)	0,288	0,314	0,365	0,322	0,039	0,044
		0,16 % (1:640)	0,210	0,269	0,257	0,245	0,031	0,432
	Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0,156	0,296	0,225	0,226	0,070	0,410
	5,0 % (1:20)	0,054	0,053	0,058	0,055	0,003	<0,001	
	2,5 % (1:40)	0,216	0,240	0,193	0,216	0,024	0,335	
	1,25 % (1:80)	0,228	0,227	0,191	0,215	0,021	0,327	
	0,63 % (1:160)	0,230	0,238	0,142	0,203	0,053	0,247	
	0,31 % (1:320)	0,215	0,291	0,306	0,271	0,049	0,246	
	0,16 % (1:640)	0,278	0,286	0,375	0,313	0,054	0,065	
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0,141	0,127	0,126	0,131	0,008	0,018	
		5,0 % (1:20)	0,250	0,172	0,156	0,193	0,050	0,184
		2,5 % (1:40)	0,155	0,182	0,159	0,165	0,015	0,073
		1,25 % (1:80)	0,111	0,113	0,121	0,115	0,005	0,008
		0,63 % (1:160)	0,104	0,093	0,089	0,095	0,008	0,003
		0,31 % (1:320)	0,104	0,109	0,107	0,107	0,003	0,006
		0,16 % (1:640)	0,084	0,103	0,110	0,099	0,013	0,004

Heliobond	10,0 % (1:10)	0,105	0,104	0,145	0,118	0,023	0,010
	5,0 % (1:20)	0,157	0,118	0,136	0,137	0,020	0,023
	2,5 % (1:40)	0,330	0,380	0,401	0,370	0,036	0,005
	1,25 % (1:80)	0,392	0,369	0,471	0,411	0,054	0,001
	0,63 % (1:160)	0,463	0,411	0,496	0,457	0,043	<0,001
	0,31 % (1:320)	0,472	0,401	0,355	0,409	0,059	0,001
	0,16 % (1:640)	0,413	0,337	0,412	0,387	0,044	0,002
HEMA	10,0 % (1:10)	0,050	0,054	0,081	0,062	0,017	0,001
	5,0 % (1:20)	0,050	0,053	0,088	0,064	0,021	0,001
	2,5 % (1:40)	0,052	0,051	0,082	0,062	0,018	0,001
	1,25 % (1:80)	0,059	0,078	0,208	0,115	0,081	0,011
	0,63 % (1:160)	0,175	0,225	0,355	0,252	0,093	0,386
	0,31 % (1:320)	0,196	0,283	0,356	0,278	0,080	0,206
	0,16 % (1:640)	0,207	0,274	0,365	0,282	0,079	0,186
TEGDMA	10,0 % (1:10)	0,104	0,152	0,096	0,117	0,030	0,010
	5,0 % (1:20)	0,158	0,196	0,062	0,139	0,069	0,028
	2,5 % (1:40)	0,075	0,085	0,142	0,101	0,036	0,004
	1,25 % (1:80)	0,079	0,097	0,246	0,141	0,092	0,033
	0,63 % (1:160)	0,187	0,272	0,340	0,266	0,077	0,279
	0,31 % (1:320)	0,307	0,311	0,257	0,292	0,030	0,132
	0,16 % (1:640)	0,326	0,325	0,268	0,306	0,033	0,080
Negativkontrolle							
		0,182	0,165	0,137	0,237	0,081	
		0,207	0,165	0,155			
		0,148	0,181	0,170			
		0,294	0,212	0,316			
		0,201	0,213	0,224			
		0,233	0,196	0,252			
		0,220	0,331	0,396			
		0,427	0,364	0,299			

Tabelle 18: Wachstum von S. mutans ATCC 25175 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	koloniebildene Einheiten / ml		
		Wert A	Wert B	Wert C
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	197.000.000	50.000.000	10.500.000
	0,63 % (1:160)	850.000.000	375.000.000	600.000.000
	0,16 % (1:640)	750.000.000	650.000.000	860.000.000
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	0	0	0
	0,63 % (1:160)	49.000.000	80.000.000	75.000.000
	0,16 % (1:640)	800.000.000	503.500.000	1.500.000.000
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	5.600.000	15.250.000	8.100.000
	2,5 % (1:40)	19.650.000	13.550.000	14.700.000
	0,63 % (1:160)	70.000.000	75.000.000	75.000.000
	0,16 % (1:640)	75.000.000	65.000.000	70.000.000
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	1.000.000	1.125.000	1.250.000
	0,63 % (1:160)	100.000.000	80.000.000	75.000.000
	0,16 % (1:640)	1.250.000.000	900.000.000	445.000.000
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	1.500.000	1.500.000	1.500.000
	0,63 % (1:160)	110.000.000	80.000.000	95.000.000
	0,16 % (1:640)	315.000.000	450.000.000	500.000.000
Heliobond	10,0 % (1:10)	50.000.000	25.000.000	40.000.000
	2,5 % (1:40)	45.000.000	45.000.000	40.000.000
	0,63 % (1:160)	70.000.000	60.000.000	90.000.000
	0,16 % (1:640)	75.000.000	100.000.000	90.000.000
HEMA	10,0 % (1:10)	1.219.578	1.246.620	
	2,5 % (1:40)	28.934.559	38.939.967	
	0,63 % (1:160)	240.670.632	109.789.075	
	0,16 % (1:640)	41.373.715	55.705.787	
TEGDMA	10,0 % (1:10)	546.241.211	438.074.635	
	2,5 % (1:40)	681.449.432	676.041.103	
	0,63 % (1:160)	554.353.705	594.916.171	
	0,16 % (1:640)	646.295.295	638.182.801	
Negativkontrolle		700.000.000	375.000.000	600.000.000
		570.578.691	546.241.211	

Tabelle 19: Wachstum von *S. mutans* ATCC 25175 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	log ₁₀ (Wert)	log ₁₀ (Wert B)	log ₁₀ (Wert)	m	s	t-Test
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	8,2945	7,6990	7,0212	7,6715	0,6371	0,004
	0,63 % (1:160)	8,9294	8,5740	8,7782	8,7605	0,1783	0,412
	0,16 % (1:640)	8,8751	8,8129	8,9345	8,8742	0,0608	0,041
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	0	0	0	0	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,6902	7,9031	7,8751	7,8228	0,1157	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,9031	8,7020	9,1761	8,9271	0,2380	0,079
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	6,7482	7,1833	6,9085	6,9466	0,2200	<0,001
	2,5 % (1:40)	7,2934	7,1319	7,1673	7,1975	0,0848	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,8451	7,8751	7,8751	7,8651	0,0173	<0,001
	0,16 % (1:640)	7,8751	7,8129	7,8451	7,8444	0,0311	<0,001
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,0000	6,0512	6,0969	6,0494	0,0485	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,0000	7,9031	7,8751	7,9261	0,0656	<0,001
	0,16 % (1:640)	9,0969	8,9542	8,6484	8,8998	0,2292	0,104
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,1761	6,1761	6,1761	6,1761	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,0414	7,9031	7,9777	7,9741	0,0692	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,4983	8,6532	8,6990	8,6168	0,1052	0,077
Heliobond	10,0 % (1:10)	7,6990	7,3979	7,6021	7,5663	0,1537	<0,001
	2,5 % (1:40)	7,6532	7,6532	7,6021	7,6362	0,0295	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,8451	7,7782	7,9542	7,8592	0,0889	<0,001
	0,16 % (1:640)	7,8751	8,0000	7,9542	7,9431	0,0632	<0,001
HEMA	10,0 % (1:10)	6,0862	6,0957		6,0910	0,0067	<0,001
	2,5 % (1:40)	7,4614	7,5904		7,5259	0,0912	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,3814	8,0406		8,2110	0,2410	0,003
	0,16 % (1:640)	7,6167	7,7459		7,6813	0,0913	<0,001
TEGDMA	10,0 % (1:10)	8,7374	8,6415		8,6895	0,0678	0,283
	2,5 % (1:40)	8,8334	8,8300		8,8317	0,0024	0,134
	0,63 % (1:160)	8,7438	8,7745		8,7591	0,0217	0,396
	0,16 % (1:640)	8,8104	8,8049		8,8077	0,0039	0,199
Negativkontrolle		8,8451	8,5740	8,7782	8,7382	0,1004	
		8,7563	8,7374				

Tabelle 20: Wachstum von *S. sanguinis* ATCC 10556 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	koloniebildene Einheiten / ml		
		Wert A	Wert B	Wert C
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	2.600.000	2.400.000	2.500.000
	0,63 % (1:160)	47.350.000	38.150.000	49.500.000
	0,16 % (1:640)	479.000.000	246.500.000	565.000.000
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	0	0	0
	0,63 % (1:160)	11.250.000	15.950.000	9.650.000
	0,16 % (1:640)	276.500.000	249.500.000	142.000.000
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	21.550.000	10.300.000	12.650.000
	2,5 % (1:40)	25.000.000	23.000.000	33.850.000
	0,63 % (1:160)	288.000.000	292.500.000	334.500.000
	0,16 % (1:640)	565.000.000	292.500.000	311.500.000
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	263.000	270.500	211.500
	0,63 % (1:160)	36.650.000	35.650.000	32.300.000
	0,16 % (1:640)	179.000.000	231.000.000	225.500.000
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	300	850	1.900
	2,5 % (1:40)	276.500	237.000	268.000
	0,63 % (1:160)	25.550.000	25.500.000	41.100.000
	0,16 % (1:640)	151.500.000	275.500.000	188.500.000
Heliobond	10,0 % (1:10)	166.500.000	241.500.000	293.500.000
	2,5 % (1:40)	260.000.000	194.000.000	118.500.000
	0,63 % (1:160)	254.500.000	292.500.000	338.000.000
	0,16 % (1:640)	350.500.000	440.500.000	421.500.000
HEMA	10,0 % (1:10)	1.119.194	951.315	
	2,5 % (1:40)	11.565.006	9.792.949	
	0,63 % (1:160)	71.535.161	87.203.880	
	0,16 % (1:640)	186.532.363	9.979.481	
TEGDMA	10,0 % (1:10)	192.128.334	196.791.643	
	2,5 % (1:40)	187.465.025	112.852.080	
	0,63 % (1:160)	181.869.054	279.798.545	
	0,16 % (1:640)	182.801.716	186.532.363	
Negativkontrolle		279.500.000	186.000.000	171.000.000
		191.195.672	233.165.454	

Tabelle 21: Wachstum von *S. sanguinis* ATCC 10556 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	log ₁₀ (Wert)	log ₁₀ (Wert B)	log ₁₀ (Wert)	m	s	t-Test
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,4150	6,3802	6,3979	6,3977	0,0174	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,6753	7,5815	7,6946	7,6505	0,0605	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,6803	8,3918	8,7520	8,6081	0,1907	0,012
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	0	0	0	0	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,0512	7,2028	6,9845	7,0795	0,1118	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,4417	8,3971	8,1523	8,3304	0,1558	0,451
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	7,3334	7,0128	7,1021	7,1495	0,1655	<0,001
	2,5 % (1:40)	7,3979	7,3617	7,5296	7,4297	0,0883	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,4594	8,4661	8,5244	8,4833	0,0357	0,011
	0,16 % (1:640)	8,7520	8,4661	8,4935	8,5705	0,1578	0,012
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	5,4200	5,4322	5,3253	5,3925	0,0585	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,5641	7,5521	7,5092	7,5418	0,0288	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,2529	8,3636	8,3531	8,3232	0,0611	0,476
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	2,4771	2,9294	3,2788	2,8951	0,4019	<0,001
	2,5 % (1:40)	5,4417	5,3747	5,4281	5,4149	0,0354	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,4074	7,4065	7,6138	7,4759	0,1194	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,1804	8,4401	8,2753	8,2986	0,1314	0,395
Heliobond	10,0 % (1:10)	8,2214	8,3829	8,4676	8,3573	0,1251	0,314
	2,5 % (1:40)	8,4150	8,2878	8,0737	8,2588	0,1725	0,260
	0,63 % (1:160)	8,4057	8,4661	8,5289	8,4669	0,0616	0,022
	0,16 % (1:640)	8,5447	8,6439	8,6248	8,6045	0,0527	0,001
HEMA	10,0 % (1:10)	6,0489	5,9783		6,0136	0,0499	<0,001
	2,5 % (1:40)	7,0631	6,9909		7,0270	0,0511	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,8545	7,9405		7,8975	0,0608	0,001
	0,16 % (1:640)	8,2708	6,9991		7,6349	0,8992	0,051
TEGDMA	10,0 % (1:10)	8,2836	8,2940		8,2888	0,0074	0,327
	2,5 % (1:40)	8,2729	8,0525		8,1627	0,1559	0,066
	0,63 % (1:160)	8,2598	8,4468		8,3533	0,1323	0,348
	0,16 % (1:640)	8,2620	8,2708		8,2664	0,0062	0,224
Negativkontrolle		8,4464	8,2695	8,2330	8,3196	0,0864	
		8,2815	8,3677				

Tabelle 22: Wachstum von E. faecalis ATCC 29212 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	koloniebildene Einheiten / ml		
		Wert A	Wert B	Wert C
Xeno III	10,0 % (1:10)	8.000	12.500	6.000
	2,5 % (1:40)	2.400.000	2.500.000	2.600.000
	0,63 % (1:160)	670.000.000	388.000.000	346.000.000
	0,16 % (1:640)	287.000.000	302.000.000	560.000.000
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	15.000	33.500	22.000
	0,63 % (1:160)	62.500.000	59.000.000	47.100.000
	0,16 % (1:640)	356.000.000	498.000.000	515.000.000
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	388.500.000	241.500.000	335.500.000
	2,5 % (1:40)	458.500.000	465.000.000	389.500.000
	0,63 % (1:160)	510.000.000	710.000.000	479.500.000
	0,16 % (1:640)	426.500.000	500.000.000	490.500.000
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	2.400.000	2.500.000	2.600.000
	2,5 % (1:40)	2.400.000	2.500.000	2.600.000
	0,63 % (1:160)	50.500.000	48.600.000	75.500.000
	0,16 % (1:640)	525.000.000	254.500.000	449.500.000
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	1.304.000	1.636.500	2.744.500
	0,63 % (1:160)	117.600.000	108.250.000	107.400.000
	0,16 % (1:640)	946.000.000	559.000.000	654.000.000
Heliobond	10,0 % (1:10)	620.000.000	635.000.000	520.000.000
	2,5 % (1:40)	570.000.000	423.500.000	413.500.000
	0,63 % (1:160)	605.000.000	432.500.000	408.500.000
	0,16 % (1:640)	520.000.000	369.000.000	326.500.000
HEMA	10,0 % (1:10)	3.750.991	3.140.365	
	2,5 % (1:40)	10.279.605	7.930.214	
	0,63 % (1:160)	71.371.927	71.371.927	
	0,16 % (1:640)	404.440.920	507.533.703	
TEGDMA	10,0 % (1:10)	574.940.523	448.057.097	
	2,5 % (1:40)	394.924.663	535.289.453	
	0,63 % (1:160)	555.114.988	389.770.024	
	0,16 % (1:640)	370.340.999	713.719.270	
Negativkontrolle		393.500.000	505.000.000	625.000.000
		416.336.241	563.045.202	

Tabelle 23: Wachstum von *E. faecalis* ATCC 29212 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	log ₁₀ (Wert)	log ₁₀ (Wert B)	log ₁₀ (Wert)	m	s	t-Test
Xeno III	10,0 % (1:10)	3,9031	4,0969	3,7782	3,9261	0,1606	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,3802	6,3979	6,4150	6,3977	0,0174	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,8261	8,5888	8,5391	8,6513	0,1534	0,316
	0,16 % (1:640)	8,4579	8,4800	8,7482	8,5620	0,1616	0,087
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	4,1761	4,5250	4,3424	4,3479	0,1745	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,7959	7,7709	7,6730	7,7466	0,0649	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,5514	8,6972	8,7118	8,6535	0,0887	0,278
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	8,5894	8,3829	8,5257	8,4993	0,1057	0,014
	2,5 % (1:40)	8,6613	8,6675	8,5905	8,6398	0,0428	0,182
	0,63 % (1:160)	8,7076	8,8513	8,6808	8,7465	0,0917	0,216
	0,16 % (1:640)	8,6299	8,6990	8,6906	8,6732	0,0377	0,362
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	6,3802	6,3979	6,4150	6,3977	0,0174	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,3802	6,3979	6,4150	6,3977	0,0174	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,7033	7,6866	7,8779	7,7560	0,1060	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,7202	8,4057	8,6527	8,5929	0,1656	0,146
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,1153	6,2139	6,4385	6,2559	0,1656	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,0704	8,0344	8,0310	8,0453	0,0218	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,9759	8,7474	8,8156	8,8463	0,1173	0,037
Heliobond	10,0 % (1:10)	8,7924	8,8028	8,7160	8,7704	0,0474	0,103
	2,5 % (1:40)	8,7559	8,6269	8,6165	8,6664	0,0777	0,339
	0,63 % (1:160)	8,7818	8,6360	8,6112	8,6763	0,0922	0,403
	0,16 % (1:640)	8,7160	8,5670	8,5139	8,5990	0,1048	0,106
HEMA	10,0 % (1:10)	6,5741	6,4970		6,5356	0,0546	<0,001
	2,5 % (1:40)	7,0120	6,8993		6,9556	0,0797	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,8535	7,8535		7,8535	0	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,6069	8,7055		8,6562	0,0697	0,309
TEGDMA	10,0 % (1:10)	8,7596	8,6513		8,7055	0,0766	0,432
	2,5 % (1:40)	8,5965	8,7286		8,6626	0,0934	0,347
	0,63 % (1:160)	8,7444	8,5908		8,6676	0,1086	0,376
	0,16 % (1:640)	8,5686	8,8535		8,7111	0,2015	0,430
Negativkontrolle		8,5949	8,7033	8,7959	8,6928	0,0852	
		8,6194	8,7505				

Tabelle 24: Wachstum von *P. gingivalis* ATCC 33277 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	koloniebildene Einheiten / ml		
		Wert A	Wert B	Wert C
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	0	0	0
	0,63 % (1:160)	344.500.000	770.000.000	263.000.000
	0,16 % (1:640)	755.000.000	176.000.000	382.000.000
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	0	0	0
	0,63 % (1:160)	42.350.000	37.950.000	43.200.000
	0,16 % (1:640)	96.500.000	217.000.000	740.000.000
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	15.150.000	750.000	20.600.000
	2,5 % (1:40)	24.200.000	30.100.000	9.250.000
	0,63 % (1:160)	241.000.000	139.000.000	575.000.000
	0,16 % (1:640)	462.500.000	540.000.000	575.000.000
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	1.800.000	1.750.000	1.700.000
	0,63 % (1:160)	45.850.000	66.500.000	43.400.000
	0,16 % (1:640)	313.000.000	146.500.000	377.000.000
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	525.000	765.000	505.000
	0,63 % (1:160)	43.850.000	40.600.000	48.750.000
	0,16 % (1:640)	500.000.000	300.000.000	317.500.000
Heliobond	10,0 % (1:10)	38.350.000	31.600.000	32.400.000
	2,5 % (1:40)	34.200.000	32.100.000	31.700.000
	0,63 % (1:160)	380.500.000	370.000.000	481.000.000
	0,16 % (1:640)	163.000.000	401.000.000	384.000.000
HEMA	10,0 % (1:10)	0	0	
	2,5 % (1:40)	4.949.664	5.536.913	
	0,63 % (1:160)	51.593.960	50.335.570	
	0,16 % (1:640)	46.560.403	52.852.349	
TEGDMA	10,0 % (1:10)	0	0	
	2,5 % (1:40)	59.983.221	51.174.497	
	0,63 % (1:160)	282.718.121	291.526.846	
	0,16 % (1:640)	266.778.523	406.040.268	
Negativkontrolle		650.000.000	630.000.000	413.000.000
		650.167.785	478.187.919	

Tabelle 25: Wachstum von *P. gingivalis* ATCC 33277 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	log ₁₀ (Wert)	log ₁₀ (Wert B)	log ₁₀ (Wert)	m	s	t-Test
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	0	0	0	0	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,5372	8,8865	8,4200	8,6145	0,2427	0,153
	0,16 % (1:640)	8,8779	8,2455	8,5821	8,5685	0,3164	0,134
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	0	0	0	0	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,6269	7,5792	7,6355	7,6138	0,0303	<0,001
	0,16 % (1:640)	7,9845	8,3365	8,8692	8,3967	0,4454	0,063
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	7,1804	5,8751	7,3139	6,7898	0,7950	0,001
	2,5 % (1:40)	7,3838	7,4786	6,9661	7,2762	0,2726	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,3820	8,1430	8,7597	8,4282	0,3109	0,034
	0,16 % (1:640)	8,6651	8,7324	8,7597	8,7191	0,0487	0,340
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,2553	6,2430	6,2304	6,2429	0,0124	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,6613	7,8228	7,6375	7,7072	0,1008	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,4955	8,1658	8,5763	8,4126	0,2175	0,010
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	5,7202	5,8837	5,7033	5,7690	0,0996	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,6420	7,6085	7,6880	7,6462	0,0399	<0,001
	0,16 % (1:640)	8,6990	8,4771	8,5017	8,5593	0,1216	0,024
Heliobond	10,0 % (1:10)	7,5838	7,4997	7,5105	7,5313	0,0457	<0,001
	2,5 % (1:40)	7,5340	7,5065	7,5011	7,5139	0,0177	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,5804	8,5682	8,6821	8,6102	0,0626	0,034
	0,16 % (1:640)	8,2122	8,6031	8,5843	8,4666	0,2205	0,021
HEMA	10,0 % (1:10)	0	0		0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,6946	6,7433		6,7189	0,0344	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,7126	7,7019		7,7072	0,0076	<0,001
	0,16 % (1:640)	7,6680	7,7231		7,6680	0,0389	<0,001
TEGDMA	10,0 % (1:10)	0	0		0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	7,7780	7,7091		7,7435	0,0488	<0,001
	0,63 % (1:160)	8,4514	8,4647		8,4580	0,0094	0,004
	0,16 % (1:640)	8,4262	8,6086		8,5174	0,1290	0,021
Negativkontrolle		8,8129	8,7993	8,6160	8,7442	0,0910	
		8,8130	8,6796				

Tabelle 26: Wachstum von *A. viscosus* ATCC 15987 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	koloniebildene Einheiten / ml		
		Wert A	Wert B	Wert C
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	0	0	0
	0,63 % (1:160)	11.500.000	38.500.000	9.000.000
	0,16 % (1:640)	15.000.000	5.000.000	11.500.000
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	0	0	0
	0,63 % (1:160)	300.000	100.000	58.000
	0,16 % (1:640)	33.500.000	25.000.000	38.000.000
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	8.650.000	150.000	4.300.000
	0,63 % (1:160)	3.000.000	37.000.000	47.000.000
	0,16 % (1:640)	108.500.000	100.500.000	43.000.000
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	82.000	70.500	100.000
	0,63 % (1:160)	9.200.000	5.650.000	9.000.000
	0,16 % (1:640)	90.500.000	99.000.000	25.000.000
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	334.000	339.500	328.500
	0,63 % (1:160)	7.600.000	7.600.000	4.800.000
	0,16 % (1:640)	27.500.000	23.500.000	59.500.000
Heliobond	10,0 % (1:10)	350.000	400.000	50.000
	2,5 % (1:40)	7.500.000	14.150.000	600.000
	0,63 % (1:160)	60.000.000	78.000.000	160.500.000
	0,16 % (1:640)	111.500.000	76.500.000	95.500.000
HEMA	10,0 % (1:10)	0	0	
	2,5 % (1:40)	9.259.259	27.777.778	
	0,63 % (1:160)	75.000.000	68.518.518	
	0,16 % (1:640)	138.888.889	164.814.815	
TEGDMA	10,0 % (1:10)	23.148.148	69.444.444	
	2,5 % (1:40)	75.925.926	9.259.259	
	0,63 % (1:160)	23.148.148	99.074.074	
	0,16 % (1:640)	409.259.259	157.407.407	
Negativkontrolle		74.500.000	70.500.000	62.500.000
		29.629.630	108.333.333	

Tabelle 27: Wachstum von *A. viscosus* ATCC 15987 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	log ₁₀ (Wert)	log ₁₀ (Wert B)	log ₁₀ (Wert)	m	s	t-Test
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	0	0	0	0	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,0607	7,5855	6,9542	7,2001	0,3379	0,009
	0,16 % (1:640)	7,1761	6,6990	7,0607	6,9786	0,2489	0,001
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	0	0	0	0	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	5,4771	5,0000	4,7634	5,0802	0,3635	<0,001
	0,16 % (1:640)	7,5250	7,3979	7,5798	7,5009	0,0933	0,029
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,9370	5,1761	6,6335	6,2489	0,9414	0,005
	0,63 % (1:160)	6,4771	7,5682	7,6721	7,2391	0,6620	0,057
	0,16 % (1:640)	8,0354	8,0022	7,6335	7,8904	0,2231	0,300
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	4,9138	4,8482	5,0000	4,9207	0,0761	<0,001
	0,63 % (1:160)	6,9638	6,7520	6,9542	6,8900	0,1196	<0,001
	0,16 % (1:640)	7,9566	7,9956	7,3979	7,7834	0,3344	0,457
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	5,5237	5,5308	5,5165	5,5237	0,0072	<0,001
	0,63 % (1:160)	6,8808	6,8808	6,6812	6,8143	0,1152	<0,001
	0,16 % (1:640)	7,4393	7,3711	7,7745	7,5283	0,2159	0,061
Heliobond	10,0 % (1:10)	5,5441	5,6021	4,6990	5,2817	0,5055	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,8751	7,1508	5,7782	6,6013	0,7261	0,005
	0,63 % (1:160)	7,7782	7,8921	8,2055	7,9586	0,2213	0,179
	0,16 % (1:640)	8,0473	7,8837	7,9800	7,9703	0,0822	0,121
HEMA	10,0 % (1:10)	0	0		0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,9666	7,4437		7,2051	0,3374	0,015
	0,63 % (1:160)	7,8751	7,8358		7,8554	0,0278	0,378
	0,16 % (1:640)	8,1427	8,2170		8,1798	0,0526	0,030
TEGDMA	10,0 % (1:10)	7,3645	7,8416		7,6031	0,3374	0,179
	2,5 % (1:40)	7,8804	6,9666		7,4235	0,6462	0,121
	0,63 % (1:160)	7,3645	7,9960		7,6802	0,4465	0,304
	0,16 % (1:640)	8,6120	8,1970		8,4045	0,2934	0,013
Negativkontrolle		7,8722	7,8482	7,7959	7,8045	0,2063	
		7,4717	8,0348				

Tabelle 28: Wachstum von *C. albicans* ATCC 76615 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	koloniebildene Einheiten / ml		
		Wert A	Wert B	Wert C
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	1.300.000	950.000	1.600.000
	0,63 % (1:160)	9.000.000	5.000.000	1.000.000
	0,16 % (1:640)	10.000.000	3.000.000	6.000.000
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	220.000	222.000	203.500
	0,63 % (1:160)	11.800.000	10.100.000	4.700.000
	0,16 % (1:640)	7.500.000	22.500.000	3.500.000
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	1.950.000	550.000	900.000
	0,63 % (1:160)	5.000.000	500.000	4.000.000
	0,16 % (1:640)	13.500.000	3.500.000	11.500.000
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	162.500	204.500	237.500
	0,63 % (1:160)	4.300.000	4.750.000	4.650.000
	0,16 % (1:640)	13.500.000	11.000.000	8.000.000
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0
	2,5 % (1:40)	0	0	0
	0,63 % (1:160)	11.350.000	7.950.000	8.600.000
	0,16 % (1:640)	9.000.000	38.500.000	6.500.000
Heliobond	10,0 % (1:10)	400.000	300.000	400.000
	2,5 % (1:40)	3.150.000	3.650.000	3.800.000
	0,63 % (1:160)	3.500.000	23.500.000	2.500.000
	0,16 % (1:640)	14.000.000	8.500.000	3.000.000
HEMA	10,0 % (1:10)	0	0	
	2,5 % (1:40)	175.462	175.462	
	0,63 % (1:160)	2.033.763	1.900.837	
	0,16 % (1:640)	3.303.203	3.562.409	
TEGDMA	10,0 % (1:10)	186.096	19.939	
	2,5 % (1:40)	704.506	737.738	
	0,63 % (1:160)	1.595.108	1.395.720	
	0,16 % (1:640)	598.166	4.785.325	
Negativkontrolle		44.000.000	10.500.000	7.500.000
		27.382.693	13.957.198	

Tabelle 29: Wachstum von *C. albicans* ATCC 76615 nach Inkubation mit Dentinadhäsiven

Werkstoff	Konzentration (Verdünnung)	log ₁₀ (Wert)	log ₁₀ (Wert B)	log ₁₀ (Wert)	m	s	t-Test
Xeno III	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,1139	5,9777	6,2041	6,0986	0,1140	<0,001
	0,63 % (1:160)	6,9542	6,6990	6,0000	6,5511	0,4940	0,026
	0,16 % (1:640)	7,0000	6,4771	6,7782	6,7518	0,2624	0,036
AdheSE Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	5,3424	5,3464	5,3086	5,3324	0,0208	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,0719	7,0043	6,6721	6,9161	0,2140	0,094
	0,16 % (1:640)	6,8751	7,3522	6,5441	6,9238	0,4063	0,140
AdheSE Bonding	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,2900	5,7404	5,9542	5,9949	0,2771	0,001
	0,63 % (1:160)	6,6990	5,6990	6,6021	6,3333	0,5515	0,012
	0,16 % (1:640)	7,1303	6,5441	7,0607	6,9117	0,3203	0,112
Syntac Primer	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	5,2109	5,3107	5,3757	5,2991	0,0830	<0,001
	0,63 % (1:160)	6,6335	6,6767	6,6675	6,6592	0,0228	0,012
	0,16 % (1:640)	7,1303	7,0414	6,9031	7,0249	0,1145	0,170
Syntac Adhesive	10,0 % (1:10)	0	0	0	0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	0	0	0	0	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	7,0550	6,9004	6,9345	6,9633	0,0812	0,109
	0,16 % (1:640)	6,9542	7,5855	6,8129	7,1175	0,4113	0,345
Heliobond	10,0 % (1:10)	5,6021	5,4771	5,6021	5,5604	0,0721	<0,001
	2,5 % (1:40)	6,4983	6,5623	6,5798	6,5468	0,0429	0,006
	0,63 % (1:160)	6,5441	7,3711	6,3979	6,7710	0,5248	0,084
	0,16 % (1:640)	7,1461	6,9294	6,4771	6,8509	0,3413	0,082
HEMA	10,0 % (1:10)	0	0		0	0	<0,001
	2,5 % (1:40)	5,2442	5,2442		5,2442	0	<0,001
	0,63 % (1:160)	6,3083	6,2789		6,2936	0,0208	0,005
	0,16 % (1:640)	6,5189	6,5517		6,5353	0,0232	0,016
TEGDMA	10,0 % (1:10)	5,2697	4,2997		4,7847	0,6859	0,001
	2,5 % (1:40)	5,8479	5,8679		5,8579	0,0142	0,001
	0,63 % (1:160)	6,2028	6,1448		6,1738	0,0410	0,003
	0,16 % (1:640)	5,7768	6,6799		6,2284	0,6386	0,015
Negativkontrolle		7,6435	7,0212	6,8751	7,2244	0,3125	
		7,4375	7,1448				

9.2. Lebenslauf

Persönliche Angaben:

Name / Vorname: Wiegand, Jana
 Geburtsdatum / -ort: 30.01.1982 in Nordhausen
 Wohnort: Krajaer Strasse 124a, 99752 Lipprechterode
 Familienstand: ledig
 Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulischer und beruflicher Werdegang:

09/1988 – 07/1992 Besuch der Wilhelm-Pieck-Oberschule in Bleicherode
 09/1992 – 06/2000 Besuch des Friedrich-Schiller-Gymnasiums in Bleicherode mit Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife am 21.06.2000

 10/2000 – 12/2005 Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität in Jena mit erfolgreichem Abschluss der Zahnärztlichen Prüfung am 16.12.2005
 seit 05/2004 Promotionsstudium bei Frau Dr. S. Eick an dem Institut für Medizinische Mikrobiologie Jena und Prof. Dr. D. Welker an der Poliklinik für zahnärztliche Prothetik und Werkstoffkunde Jena
 01/2006 Approbation als Zahnärztin

 01/2006 – 03/2008 Anstellung als Assistenz Zahnärztin in Lipprechterode
 seit 03/2008 Anstellung als Zahnärztin in Lipprechterode

Lipprechterode, den 05.06.2009

9.3. Danksagung

Besonderen Dank gilt Frau Dr. S. Eick und Herrn Prof. W. Pfister, die mir dieses Thema überließen und stets hilfsbereit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Desweiteren möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. D. Welker und Dr. R. Göbel für die fachliche Unterstützung bedanken.

Weiterhin Dank den Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Mikrobiologie Jena und der Poliklinik für zahnärztliche Prothetik und Werkstoffkunde Jena, die mir die Hilfsmittel und ihre Sachkenntnis für die Durchführung der praktischen Untersuchungen zur Verfügung stellten. Außerdem bedanke ich mich bei den Mitarbeitern des Institutes für Ultrastrukturforschung, Frau Herrmann und Frau Kaiser, unter deren Anleitung und Verantwortung die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen entstanden.

Mein Dank gilt weiterhin meiner Familie, die mir immer beistanden und mich unterstützten.

Dank außerdem der Ivoclar Vivadent AG und DENTSPLY DeTrey GmbH für die Bereitstellung der Dentinadhäsive.

9.4. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: PD Dr. Sigrun Eick, Prof. Dr. Dieter Welker,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Lipprechterode, den 05.06.2009