

Aus der Poliklinik für Zahnärztliche Chirurgie und Aufnahme
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Westdeutsche Kieferklinik
Direktor: Univ.- Prof. Dr. J. Becker

Dekontamination Biofilm-besiedelter
Implantatoberflächen mit einer neuartigen
Titanbürste

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Gordon John

2013

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Dekan:

Referent: Prof. Dr. Schwarz

Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. Ommerborn

Meinen Eltern gewidmet

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

John G, Becker J, Schwarz F. Rotating titanium brush for plaque removal from rough titanium surfaces – an in vitro study. Clin Oral Implants Res. 2013; doi 10-1111/clr.12147. [Epub ahead of print]

Zusammenfassung

Fragestellung:

Es wurde die Fragestellung bearbeitet, ob diese Titanbürste bezüglich ihrer Reinigungseffektivität und -effizienz im Vergleich zu einer Standardtherapie mit Stahlküretten überlegen ist. Weiterhin wurde untersucht, ob durch die jeweiligen Behandlungsmethoden Oberflächenartefakte auf den feinstrukturierten Probekörpern erzeugt werden konnten.

Methodisches Vorgehen:

Auf Titanprobekörpern, die in ihrer Oberfläche handelsüblichen SLA-Implantatoberflächen entsprechen, wurden Biofilme über 48 Stunden intraoral in freiwilligen Studienteilnehmern gesammelt. Anschließend wurden die Plättchen auf eine vollständige und homogene Biofilmbesiedelung mittels Erythrosinfärbung und Lichtmikroskopie getestet. Nach standardisierter Durchführung der Reinigungsmethoden wurden überbleibende Restbiofilmanteile lichtmikroskopisch bestimmt und mittels histomorphometrischer Analyse ausgewertet. Mögliche Oberflächenartefakte, die durch Reinigungsprozeduren entstehen könnten, wurden mittels rasterelektronenmikroskopischer Untersuchungen evaluiert. Die Biokompatibilität der Oberflächen nach Durchführung der Reinigungsprozeduren wurde mittels Zellkulturtestung ermittelt. Hierbei wurden osteoblastenähnliche SAOS-2-Zellen verwendet.

Ergebnisse und Diskussion:

Nach der Behandlung mit der Titanbürste konnte signifikant weniger residualer Biofilm detektiert werden als mit der Stahlkürettenbehandlung. Somit konnte im Vergleich zur Stahlkürette eine höhere Effektivität der Titanbürste nachgewiesen werden. Die Reinigungszeit, die für das Erreichen der Ergebnisse nötig war, war bei Verwendung der Titanbürste signifikant geringer als bei der Stahlkürettengruppe, wodurch eine höhere Effizienz der Titanbürste im Vergleich zu Stahlküretten nachgewiesen werden konnte. Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten nach der Anwendung von Stahlküretten deutliche Oberflächenartefakte in Form von Abflachungen der SLA-Spitzen aufzeigen, währenddessen nach Anwendung der Titanbürste auf allen untersuchten Probekörpern vollständig intakte SLA-Oberflächen nachgewiesen werden konnten. Die Anwendung der Titanbürste erscheint als eine schonende Reinigungsmethode. In den Zellkulturuntersuchungen konnten sowohl nach der Behandlung mit Stahlküretten als auch nach der Behandlung mit Titanbürsten signifikant niedrigere Zellviabilitäten nachgewiesen werden als auf den nativen, nicht Biofilm-besiedelten Probekörpern. Eine Wiederherstellung einer biokompatiblen Oberfläche konnte in keiner der beiden Testgruppen nachgewiesen werden.

Schlussfolgerung:

Die vorliegende Studie weist die Titanbürste als eine effektive, effiziente und oberflächenschonende Methode zur Entfernung nativer, initialer Biofilme aus. Die Methode könnte eine interessante Alternative in der Periimplantitistherapie darstellen. Allerdings sind weitere Überlegungen und Untersuchungen dringend nötig, um das Ziel der Wiederherstellung einer biokompatiblen Implantatoberfläche nach Biofilmentfernung zu erreichen.

Abkürzungen

BOP	<i>Bleeding on Probing</i>
CO ₂ -Laser	Kohlenstoffdioxid-Laser
CPS	<i>Counts per second</i> (Impulse pro Sekunde)
DMEM	<i>Dulbecco's modified eagle medium</i> (Zellkulturmedium)
Er,Cr:YSGG-Laser	Erbium, Chromium: Yttrium Scandium, Gallium Garnet-Laser
Er:YAG-Laser	Erbium: Yttrium Aluminium Garnet-Laser
FBS	<i>fetal bovine serum</i> (fetales Kälberserum)
GI	Gingivaindex
IDDM	<i>Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i> , (Diabetes I)
IL	Interleukin
IP	<i>initial plaque area</i> (initiale Biofilmbesiedelung)
N	Newton
Nd:YAG-Laser	Neodym-dotierter Yttrium Aluminium Garnet-Laser
NIDDM	<i>Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i> (Diabetes II)
PI	Plaqueindex
R _a	mittlere Rauheit
s	Sekunde
SAOS-2-Zellen	<i>Sarcoma osteogenic cells</i> , osteoblastenähnliche Zelllinie
SLA	<i>Sand blasted with large grids and acid etched</i> (säuregeätzte und gestrahlte Titanoberfläche)
U/min	Umdrehungen pro Minute

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung	1
1.1 periimplantäre Infektionen	1
1.2 Ätiologie	1
1.2.1 primärer Faktor: der Biofilm:	2
1.2.2 additive Faktoren	4
1.2.2.1 Parodontalerkrankungen	4
1.2.2.2 Rauchen	4
1.2.2.3 Die Breite der keratinisierten Mukosa	5
1.2.2.4 Diabetes mellitus	5
1.2.2.5 Mundhygiene	6
1.3 Histopathologische Phasen periimplantärer Entzündungen	6
1.3.1 Frühe periimplantäre Mukositis	6
1.3.2 Etablierte periimplantäre Mukositis	6
1.3.3 Fortgeschrittene periimplantäre Mukositis	7
1.3.4 Periimplantitis	7
1.4 Klinische Manifestationen einer Periimplantitis	8
1.4.1 Sichere Anzeichen einer Periimplantitis	8
1.4.1.1 Implantatlockerung	8
1.4.1.2 Klinischer Nachweis einer periimplantären Tasche	8
1.4.1.3 radiologischer Nachweis periimplantären Knochenverlustes	8
1.4.2 Unsichere Anzeichen einer Periimplantitis	9
1.4.2.1 Schwellung und Rötung	9
1.4.2.2 Schmerzen	9
1.5 Diagnostik periimplantärer Entzündungen	10
1.5.1 Mundhygiene	10
1.5.2 Entzündungsgrad der periimplantären Mukosa	10
1.5.3 Sondierungstiefe	12
1.5.4 Klinische Klassifikation	12
1.5.5 Radiologische Klassifikation	13
1.6 Therapie	14
1.6.1 Hygienephase	14
1.6.2 Parodontale Vorbehandlung	14
1.6.3 Korrektive Phase	15
1.6.3.1 Nicht chirurgische Vorbehandlung	15
1.6.3.2 Chirurgische Behandlung	16
1.7 Fragestellung	17
1.8 Arbeitshypothesen	17

2. Material und Methoden	18
2.1 Probanden	18
2.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien	18
2.3 Probekörper	19
2.4 Schienendesign	19
2.5 Färbung und Quantifizierung des initialen Biofilmes	21
2.6 Durchführung der Oberflächenreinigung	21
2.7 Bestimmung der initialen Biofilmbesiedelung und residualen Biofilmanteile nach Behandlung	24
2.8 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	25
2.9 Zellkulturtestungen	25
2.10 Statistische Auswertung	27
3. Ergebnisse	28
3.1 Bestimmung der IP und RPA	28
3.2 Bestimmung der Reinigungszeit	31
3.3 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen	33
3.4 Zellkulturuntersuchungen	37
4. Diskussion	40
4.1 Fazit	54
5. Literatur	57

1. Einleitung

1.1 Periimplantäre Infektionen:

Periimplantäre Infektionen stellen ein zunehmendes Problem im zahnärztlichen Alltag dar. Verschiedene klinische Untersuchungen konnten zeigen, dass innerhalb einer Nachbeobachtungszeit von mindestens 5 Jahren in 28 bis 56% der kontrollierten Individuen sowie an 12 bis 43% der untersuchten Implantate eine Periimplantitis diagnostiziert werden konnte (1). Klinische Untersuchungen konnten eine Prävalenz periimplantärer Mukosiden von 80% der untersuchten Patienten und bis 50% an den untersuchten Implantaten feststellen (2).

Wenn eine Periimplantitis nicht durch eine adäquate Therapie zum Stagnieren gebracht werden kann, wird das Krankheitsbild weiter voranschreiten, das periimplantäre, knöcherne Lager weiter vermindert, was den Verlust des Implantates zur Folge haben kann (3).

1.2 Ätiologie:

Bereits in der Frühphase der knöchernen Einheilung des Implantatkörpers können gewisse Umstände zu Frühkomplikationen führen. Hierzu zählen vor allem iatrogene Schäden durch Hitzeeinwirkung während der Implantatbettauflbereitung. Daraus resultierend können sich Nekrosen des knöchernen Implantatbettes ergeben. Dieser Gefahrenquellen muss durch entsprechende Vorsichtsmaßnahmen wie reduziertem Anpressdruck beim Bohren, reduzierter Drehgeschwindigkeit des Bohrers, durch Verwenden scharfer Instrumente und intermittierende Vorgehensweise beim Bohren begegnet werden. Eine ausreichende Kühlung der Aufbereitungsinstrumente ist unverzichtbar. Wunddehiszenzen während der frühen Einheilphase können den implantologischen Erfolg ebenfalls negativ beeinflussen. Daher ist es unabdingbar, gerade nach augmentativen Verfahren, mit einem sicheren, spannungsfreien Wundverschluss diesem Faktor entgegen zu wirken. Nicht regelgerecht befestigte Sekundärteile stellen einen weiteren Faktor für die

negative Beeinflussung der periimplantären Weichgewebssituation dar. Solche Aufbauteile weisen ständige Mikrobewegungen auf, die einen steten Reizfaktor darstellen. Außerdem bieten eventuelle Spaltbildungen Schlupfwinkel für pathogene Keime(4).

1.2.1 Primärer Faktor: der Biofilm:

Die Ausbildung von Biofilmen an den Implantatoberflächen stellt den primären Faktor für die Manifestation von periimplantären Infektionen dar. Der Begriff Biofilm beschreibt die bakterielle Besiedelung von Oberflächen. Mikroorganismen sind innerhalb eines Biofilmes einer Oberfläche angeheftet, räumlich organisiert und in einer extrazellulären Matrix integriert (5). Die Anlagerung und Ausbildung eines Biofilmes ist in wässriger Umgebung in vier Schritten beschrieben worden (6):

Phase 1	Transport der Mikroorganismen zur Implantatoberfläche
Phase 2	Initiale, reversible Adhäsion an die Implantatoberfläche über Van der Waals-Bindungen, elektrostatische Anziehungen
Phase 3	Feste, irreversible Bindungen der Mikroorganismen auf der Implantatoberfläche über kovalente oder Wasserstoffbrückenbindungen
Phase 4	Weitere Kolonisation und Ausbildung / Reifung des Biofilms

Tab.1: Übersicht der Phasen der Biofilmbildung im wässrigen Milieu nach Scheie

Unmittelbar nach der Zahn- / Implantatoberflächenreinigung entsteht innerhalb weniger Minuten eine sogenannte Pellikelschicht, welche reich an den Speichelbestandteilen Muzin, α -Amylase sowie weiteren Glykoproteinen ist. Diese Pellikelanlagerung sowie die Absorption von Albumin spielen bei der beginnenden Biofilmanlagerung eine wichtige Rolle (7,8).

Innerhalb des Biofilms haben die Bakterien eine erhöhte Überlebensfähigkeit. Keime, die sich innerhalb eines Biofilms befinden, sind nur begrenzt den Angriffen von Antibiotika oder der Immunabwehr ausgesetzt. Antibiotika können sogar aktiv durch die Eigenschaften bestimmter Bakterien im Biofilm, wie beispielsweise der Ausbildung von β -Lactamasen, in ihrer Wirksamkeit geschwächt oder bekämpft werden. Die zelluläre Körperabwehr wird insofern geschwächt, dass Phagozyten in die extrazelluläre Matrix nicht penetrieren können und somit keinen direkten Zugang zu den Bakterien haben. Mehrere klinische Untersuchungen konnten die vielfältige und verschiedenartige Zusammensetzung der einzelnen Bakterienspezies innerhalb der periimplantären Flora nachweisen. Folgende charakteristische pathogene Keime wurden bei diesen Studien aus entzündeten, periimplantären Taschen extrahiert (9,10):

- *Porphyromonas gingivalis*
- *Prevotella intermedia*
- *Prevotella nigrescens*
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- *Parvimonas micra*
- *Peptostreptococcus stomatis*
- *Pseudoramibacter alactolyticus*
- *Solobacterium moorei*

Vergleichbar zum experimentellen Gingivitismodell, das erstmalig 1965 durch Loe (11) beschrieben wurde, konnte der kausale Zusammenhang zwischen Biofilm und der Manifestation periimplantärer Infektionen für die Situation an dentalen Implantaten bestätigt und der Biofilm als primärer Faktor herausgehoben werden (12).

1.2.2 Additive Faktoren

1.2.2.1 Parodontalerkrankungen:

In klinischen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass Patienten, die bereits vorangegangene Parodontopathien vor Implantation zeigten oder Patienten, mit parodontalen Erkrankungen an Nachbarzähnen, ein signifikant erhöhtes Periimplantitisrisiko aufwiesen (13). In klinischen Untersuchungen periimplantärer Taschen wurden signifikant erhöhte Vorkommen von speziellen, pathogenen Keimen wie Spirochäten und beweglicher Stäbchen (14), *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* und *Porphyromonas Gingivalis* (15) in der periimplantären Flora beobachtet. Weiterhin wurde eine signifikant erhöhte Komplikationsrate bei Patienten mit bekannten chronischen Parodontopathien (9,5%) im Vergleich zu Patienten ohne bekannte chronische Parodontopathien (3,5%) in einem Nachuntersuchungsintervall von zehn Jahren festgestellt (16).

1.2.2.2 Rauchen:

Das Rauchen vermindert die Chemotaxis von Abwehrzellen und die Phagozytosefähigkeit der neutrophilen Granulozyten und verschlechtert somit direkt die zelluläre Immunreaktion. Dies kann sich sowohl in Bezug auf Ausbildung von Frühkomplikationen bereits während der Einheilphase von Implantaten als auch in Form der Risikoerhöhung für die Entstehung von Spätkomplikationen negativ auswirken (17). Sowohl retrospektive als auch prospektive klinische Untersuchungen konnten eine signifikant geringere Erfolgsprognose von Implantaten bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern innerhalb von Nachuntersuchungsintervallen von dreieinhalb beziehungsweise drei Jahren beobachten (18,19).

1.2.2.3 Die Breite der keratinisierten Mukosa:

Durch tierexperimentelle Untersuchungen konnte bereits gezeigt werden, dass sich eine schmale oder fehlende keratinisierte Mukosa negativ auf gesunde periimplantäre Verhältnisse auswirkte (20). Durch das Fehlen der keratinisierten Mukosa entstehen nicht nur ästhetische Nachteile. Insbesondere in der Umgebung einstrahlender Wangen- und Lippenbändchen kann durch intermittierenden Zug auf die periimplantären Weichgewebe eine Art Pumpwirkung resultieren, die eine Plaqueanlagerung zusätzlich begünstigt.

1.2.2.4 Diabetes mellitus:

Der Diabetes mellitus gilt als anerkannter Risikofaktor für die Entstehung und Manifestation periimplantärer Entzündungen. Dies gilt gleichermaßen für den Diabetes mellitus Typ I (*insulin dependent diabetes mellitus*, IDDM) als auch für den Diabetes mellitus Typ II (*non-insulin dependent diabetes mellitus*, NIDDM) (21). Die Folgen eines schlecht eingestellten Diabetes mellitus für das zahnärztliche Behandlungsspektrum, insbesondere operativer Verfahren, sind in einer verringerten Gefäßversorgung und Ernährung der Gewebe zu sehen sowie in einer reduzierten Immunabwehr, die in einem erhöhten Anteil postoperativer Wundheilungsstörungen sowie in einem Anstieg parodontaler und periimplantärer Infektionen resultieren (22). Eine prospektive klinische Studie konnte nachweisen, dass bei Vorliegen eines Diabetes das Risiko für die Entwicklung periimplantärer Erkrankungen signifikant erhöht war. Dieser Zusammenhang war für die Manifestation einer Periimplantitis stärker ausgeprägt als für die Ausbildung periimplantärer Mukositiden (23).

1.2.2.5 Mundhygiene:

In klinischen Untersuchungen konnte eine enge Verknüpfung zwischen unzureichender Mundhygiene und dem gehäuften Auftreten periimplantärer Infektionen beobachtet werden (24). Das Erreichen guter Mundhygienestandards ist eine wichtige Voraussetzung bei der Behandlung periimplantärer

Entzündungen, da diese dem primären ätiologischen Faktor Biofilm direkt entgegenwirkt.

1.3 Histopathologische Phasen periimplantärer Entzündungen

1.3.1 Frühe periimplantäre Mukositis:

Bakterien der supragingivalen Plaque setzen Lipopolysaccharide frei, durch welche die Saumepithelzellen zur Freisetzung von Interleukin-8 angeregt werden. Dieser Umstand erhöht die Chemotaxis im Bereich der vorliegenden Reizung, was die Einwanderung und Ansammlung von T-Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Plasmazellen im subepithelialen Bindegewebe zur Folge hat. Im koronalen Anteil beginnt das Saumepithel bereits nach lateral zu proliferieren. Durch eine Steigerung der Gefäßpermeabilität, die Freisetzung lytisch wirksamer Enzyme wie Hydrolasen und Proteasen, sind bereits in diesem Stadium dezente Strukturverluste im Bereich des subepithelialen Bindegewebes histopathologisch nachweisbar. Der apikale Bereich des Saumepithels zeigt sich zu diesem Zeitpunkt noch unverändert (25).

1.3.2 Etablierte periimplantäre Mukositis:

In dieser Phase vermehrt sich das entzündliche Zellinfiltrat im Bereich des subepithelialen Bindegewebes und breitet sich sowohl in lateraler als auch in apikaler Richtung aus. Das Saumepithel wird durch die Einflüsse von Entzündungszellen und der lytischen Aktivität von Hydrolasen und Proteasen angegriffen und erscheint degeneriert. Dies begünstigt die Ausbildung der periimplantären, gingivalen Tasche und die Manifestation eines Taschenepithels. Charakteristisch für die Phase ist, dass zwischen dem periimplantären Knochen und dem entzündlichen Zellinfiltrat immer noch eine unversehrte bindegewebige Barriere nachzuweisen ist. Eine Zunahme von Makrophagen, die ihrerseits wiederum Interleukine, vor allem IL-1, IL-6, IL-8 und IL-12, und Tumornekrosefaktor- α freisetzen, wird vermehrt beobachtet

(26, 27). Unter diesen Bedingungen wird eine vermehrte Destruktion der subepithelialen Kollagenstrukturen unterstützt (25).

1.3.3 Fortgeschrittene periimplantäre Mukositis:

Der Übergang von der etablierten zur fortgeschrittenen periimplantären Mukositis ist durch die Ausbildung und Manifestation einer echten periimplantären Tasche sowie der Reifung eines subepithelialen Biofilms gekennzeichnet. Das entzündliche Zellinfiltrat vermehrt sich nun hauptsächlich in apikaler Richtung. Das Taschenepithel zeigt sich vornehmlich fenestriert und ulzeriert, was eine Invasion von weiteren pathogenen Keimen in das ebenfalls bereits deutlich destruierte subepitheliale Bindegewebe begünstigt. Das histologische Zellbild dominieren nun T-Lymphozyten und Makrophagen. Letztere werden durch die Präsenz von pathogenen Keimen zur Sekretion von Zytokinen und Metalloproteinasen angeregt, welche zu einem weiteren Strukturverlust der extrazellulären Matrix sowie Verlust der Gewebeintegrität führen. Durch erhöhte Spiegel von Tumornekrosefaktor- α werden Osteoklasten zur beginnenden Resorption des periimplantären Knochenlagers angeregt (25).

1.3.4 Periimplantitis:

Sowohl das entzündliche Zellinfiltrat als auch das immer weiter zunehmend ulzerierte und destruierte Taschenepithel proliferieren weiter in lateraler und apikaler Richtung. Osteoklasten werden in ihrer Aktivität durch eine nochmals verstärkte Sekretion von Zytokinen, Prostaglandinen und Tumornekrosefaktor- α angeregt, wodurch nun der charakteristische, deutlich nachweisbare periimplantäre Knochenabbau beobachtet werden kann (25). Dies bedeutet gleichermaßen den Übergang in ein irreversibles Stadium des Erkrankungszustandes.

1.4 Klinische Manifestationen einer Periimplantitis:

1.4.1 Sichere Anzeichen einer Periimplantitis:

1.4.1.1 Implantatlockerung:

Die Beweglichkeit eines ursprünglich osseointegrierten Implantates beweist den kompletten Verlust des knöchernen periimplantären Knochenlagers und somit den Totalverlust der Osseointegration, die eine Grundvoraussetzung für ein funktionelles Implantat darstellt. Ein erfolgreiches Implantat zeigt sich klinisch unbeweglich (28).

1.4.1.2 Klinischer Nachweis einer periimplantären Tasche:

Durch den vertikalen Knochenverlust kommt es zur Ausbildung einer periimplantären Tasche. Insbesondere die voranschreitende Erhöhung der Sondierungstiefe gemessen zu einem festen Bezugspunkt wie der Implantatschulter beweist die Manifestation einer aktiven, progredienten Periimplantitis (29).

1.4.1.3 Radiologischer Nachweis periimplantären Knochenverlustes:

Mittels klassischen zahnärztlichen radiologischen Untersuchungen wie der Zahnfilmaufnahme oder der Panoramaschichtaufnahme sind bereits horizontale oder vertikale periimplantäre Knochenresorptionen nachweisbar. Moderne dreidimensionale Aufnahmetechniken wie die digitale Volumetomographie können periimplantäre Knochendefekte mit einer Genauigkeit von circa 0,5mm darstellen (30,31), haben allerdings den Vorteil, dass die Defektsituation bereits vor chirurgischer Eröffnung der Defekte räumlich dargestellt wird, was eine Therapieplanung stark vereinfacht. Sowohl horizontaler als auch vertikaler, radiologisch nachweisbarer Knochenverlust beweist das Vorliegen einer Periimplantitis.

1.4.2 Unsichere Zeichen einer Periimplantitis:

1.4.2.1 Schwellung und Rötung:

Diese beiden Entzündungscharakteristika sind für eine Periimplantitis nicht beweisend, können allerdings als Begleiterscheinungen auftreten. Sowohl Schwellung als auch Rötungen werden bei periimplantärer Mukosahyperplasie sowie periimplantärer Mukositis beobachtet (4).

1.4.2.2 Schmerzen:

Das Auftreten von Schmerzen lässt keinen Rückschluss auf das Vorliegen einer Periimplantitis zu, da Schmerzen bereits im initialen Stadium der frühen periimplantären Mukositis auftreten können (4)

1.5 Diagnostik periimplantärer Entzündungen:

Für den klinisch tätigen Zahnarzt ist es wichtig, relevante klinische Parameter objektivieren und reproduzieren zu können. Hierfür wurden Indexsysteme entwickelt, die, falls nötig, unter Einsatz der Parodontalsonde einfach erhoben werden können. Dies geschieht möglichst durch eine Sechspunktmessung an jedem betroffenen Implantat (32).

1.5.1 Mundhygiene:

Die Mundhygiene wird im Zusammenhang mit bestehenden Parodontalerkrankungen durch die Erhebung des Plaqueindex (PI) nach Silness und Loe (33) kontrolliert (Tab.2). Der PI, gleich welcher Modifikation, wird nach folgender Formel berechnet:

PI = Summe der Indexwerte / Summe der gemessenen Stellen
--

Grad	Kriterien
0	Keine Plaque
1	Dünnere Plaquefilm am Gingivarand, nur erkennbar durch Abstreichen der Sonde
2	Mäßige Plaque entlang des Gingivarandes mit dem Auge erkennbar, Interdentalräume frei
3	Viel Plaque entlang des Gingivarandes, Interdentalräume mit Plaque gefüllt

Tab.2: Zusammenfassung des Plaqueindex nach Silness und Loe

Dieser im klinischen Alltag etablierte Index wurde an die speziellen Gegebenheiten an Implantaten angepasst und dementsprechend modifiziert (34).

Grad	Kriterien
0	Keine Plaque
1	Plaque nur durch Abstreichen der Sonde im Bereich des maschinieren Implantatanteils zu erkennen
2	Plaque mit dem Auge erkennbar
3	Übermäßige Plaqueakkumulation

Tab.3: Zusammenfassung des modifizierten Plaqueindex nach Mombelli et al.

1.5.2 Entzündungsgrad der periimplantären Mukosa:

Ein klinisch bewährtes System zur Beurteilung des Entzündungszustandes parodontaler Gewebe stellt der Gingivaindex nach Loe und Silness (35) dar (Tab.4). Dieser wird mit Hilfe des Einsatzes einer Parodontalsonde erhoben und ähnlich dem Vorgehen bei der Berechnung des PI nach folgender Formel kalkuliert:

GI = Summer der Indexwerte / Summe der Messstellen
--

Grad	Kriterien
0	Normale Gingiva ohne Entzündungszeichen, keine Verfärbung, keine Blutung
1	Geringe Entzündung, leichte Farbveränderung, geringe Oberflächenveränderung, keine Blutung
2	Mäßige Entzündung, Rötung, Schwellung, Blutung auf Sondieren sowie auf Druck
3	Starke Entzündung, starke Rötung, starke Schwellung, Tendenz zur Spontanblutung, Ulzerationen

Tab.4: Zusammenfassung des Gingivaindex nach Loe und Silness

Dieser Index wurde an die spezielle Situation an Implantaten angepasst (34). Ein hoher Indexwert entspricht hierbei einem hohen Entzündungsgrad der periimplantären Weichgewebe (Tab.5).

Grad	Kriterien
0	Keine Blutung, wenn die periimplantäre Mukosa mit der Parodontalsonde ausgestrichen wird
1	Isolierte Blutungspunkte
2	Konfluente Blutungslinie entlang des marginalen Gingivasaumes
3	Profuse Blutung

Tab.5: Zusammenfassung des modifizierten Gingivaindex nach Mombelli et al.

Eine weitere einfachere, da ohne Kenntnisse über Indexsysteme durchführbare Methode zur Überprüfung des Entzündungszustandes der periimplantären Weichgewebe ist in der Verwendung des sogenannten Bluten auf Sondieren zu sehen (Bleeding on Probing, BOP) (36). Bei der Durchführung dieses Verfahrens wird die Parodontalsonde unter geringem Druck, der 0,25N nicht übersteigen sollte, an möglichst sechs Stellen um das Implantat eingebracht

und nach 15 Sekunden die Menge der positiven Blutungspunkte erfasst. Die Berechnung des BOP erfolgt nach folgender Formel:

$$\text{BOP (\%)} = \frac{\text{Summe der positiven Blutungspunkte}}{\text{Anzahl der Messstellen}} \times 100$$

1.5.3 Sondierungstiefe:

Die Sondierungstiefe wird ebenfalls mit Hilfe einer Parodontalsonde im Prinzip der Sechspunktmessung pro Implantat durchgeführt. Hierbei sollte ein Druck von 0,25N nicht überschritten werden. Allerdings wird die Sondierungstiefe um Implantate durch unterschiedliche Faktoren wie Form und Ausdehnung der prothetischen Versorgung, Form des Implantatkörpers oder Dicke und Festigkeit der periimplantären Weichgewebe beeinflusst, was es im Vergleich zum Vorgehen bei Parodontopathien unmöglich macht, einen absoluten Wert für eine Grenze zwischen physiologischen und pathologischen Werten anzugeben. Der wichtigste Hinweis auf eine Progredienz einer Periimplantitis ist die Zunahme der Sondierungstiefe. Trotz oben genannter Problematik wurden Sondierungstiefen von größer als sechs Millimetern als möglicher Indikator für das Vorliegen einer Periimplantitis beschrieben (37).

1.5.4 Klinische Klassifikation:

Um den verschiedenen Anforderungen der unterschiedlichen Morphologien periimplantärer Defekte bei der Therapie gerecht werden zu können und dem Behandler eine Hilfe für die Vorgehensweise zur Seite zu stellen, wurde eine klinische Defektklassifikation entwickelt (38). Diese unterteilt suprakrestale (klinische Klasse 2) von intraossären Defekten (klinische Klasse 1). Die suprakrestalen Defizite werden als Distanz zwischen dem krestalen Knochenanteil und dem strukturierten Anteil der dentalen Implantate bestimmt. Die intraossären Defekte gliedern sich ihrerseits in weitere Untergruppen auf,

die in Tabelle sechs zusammengefasst sind. Eine Kombination aus klinischer Klasse 1 und klinischer Klasse 2 Defektsituationen ist nicht nur möglich, sondern im zahnärztlichen Alltag häufig anzutreffen.

Klasse	Eigenschaften
la	Vestibuläre oder orale Dehiszenzdefekte mit Lage des Implantatkörpers innerhalb oder außerhalb des Envelopes
lb	Vestibuläre oder orale Dehiszenzdefekte mit semizirkulärer Knochenresorption bis zur Mitte des Implantatkörpers (Lage des Implantatkörpers innerhalb bzw. außerhalb des Envelopes)
lc	Dehiszenzdefekte mit zirkulärer Knochenresorption unter Erhalt der vestibulären oder oralen Kompaktaschicht (Lage des Implantatkörpers innerhalb bzw. außerhalb des Envelopes)
ld	Zirkuläre Knochenresorption mit vestibulärem und oralem Verlust der Kompaktaschicht (Lage des Implantatkörpers innerhalb bzw. außerhalb des Envelopes)
le	Zirkuläre Knochenresorption unter Erhalt der vestibulären und oralen Kompaktaschicht
II	Suprakrestale Defektkomponente

Tabelle 6: Zusammenfassung der klinischen Defektklassifikation nach Schwarz et al.

1.5.5 Radiologische Klassifikation:

Radiologische, bildgebende Verfahren gehören zu den Basisuntersuchungsmethoden in der Zahnmedizin. Sie liefern dem behandelnden Zahnarzt Informationen über die marginale und periimplantäre Defektsituation. Hier wurde ebenfalls eine Klassifikation entwickelt, die dem behandelnden Zahnarzt eine Hilfe bei der Therapieentscheidung sein kann (39).

Klasse	Kriterien
I	Horizontale Knochenresorption
II	Schüsselförmige Knochenresorption
III	Trichterförmige Knochenresorption
IV	Spaltförmige Knochenresorption

Tabelle 7: radiologische Defektklassifikation periimplantärer Defekte nach Spiekermann

1.6. Therapie:

1.6.1 Hygienephase:

Durch die Form prothetischer Suprakonstruktionen sind häufig gerade die Bereiche, die für die Entstehung periimplantärer Infektionen von großer Bedeutung sind, schlecht zugänglich für die Mundhygienemaßnahmen der Patienten: die Durchtrittsstellen der Implantate durch die Mundschleimhaut. Das Ziel der Hygienephase ist die kurzfristige Reduzierung vor allem der supragingivalen Plaque und soll somit zu einer Verminderung des Entzündungszustandes führen. Weiterhin sollen durch die Hygienephase stabile Mundhygieneverhältnisse geschaffen werden, um eine möglichst gute Vorbereitung für den Übergang in die korrektive Phase zu erreichen. Diese Phase dient außerdem zur besseren und langfristigeren Konservierung der erreichten Ergebnisse, die durch eventuell korrigierende Eingriffe erzielt wurden (25).

1.6.2 Parodontale Vorbehandlung:

In klinischen Untersuchungen wurde mehrfach festgestellt, dass sich die bakterielle Flora parodontal erkrankter Zähne und jene der entzündeten periimplantären Taschen sehr ähnlich sind und dass die pathogenen Keime von parodontal erkrankten Zähnen auf Implantate übergehen können (40,41). Ziel

dieser Phase ist es, die supra- und subgingivale Plaque an den Zähnen möglichst komplett zu entfernen, um eine maximale Reduktion der pathogenen Keime zu erreichen (42).

1.6.3 Korrektive Phase:

1.6.3.1 Nicht chirurgische Vorbehandlung:

Das Ziel dieser Phase ist die Beseitigung der supra – und subgingivalen Biofilmanteile von den Implantatoberflächen als Vorbereitung auf eine mögliche chirurgische Intervention. Die Entfernung der supragingivalen Biofilme kann mittels verschiedener Bürstchen oder Polierkelche erfolgen. Die Beseitigung der subgingivalen Biofilmanteile kann beispielsweise mit speziellen Küretten durchgeführt werden. Um Schäden auf den meist strukturierten Implantatoberflächen zu vermeiden, sollten die Spezialküretten aus einem Material gefertigt sein, das eine geringere Härte als Titan aufweist (43). Diesbezüglich haben sich Titan-, Kunststoff-, Karbon- und Teflonküretten bewährt. Des Weiteren können zur Reinigung von kontaminierten und texturierten Implantatoberflächen Ultraschallsysteme und Pulverstrahlgeräte eingesetzt werden. Untersuchungen konnten aufzeigen, dass die Ultraschallsysteme eine höhere Effektivität als Kunststoffküretten haben, allerdings sind 37% Restbiofilmanteil nach der Reinigungsprozedur nicht zufriedenstellend (44). Pulverstrahlgeräten wurde in klinischen Studien eine höhere Reinigungseffektivität attestiert, allerdings konnten ebenso Veränderungen auf den behandelten Titanoberflächen nachgewiesen werden (45). Lasersysteme können ebenfalls sehr effektiv zur Oberflächen-dekontamination von Titanimplantaten eingesetzt werden. Insbesondere Systeme, die auf dem Erbium:Yttrium, Aluminium und Garnet-Prinzip (Er:YAG-Laser), dem CO₂ –Laser, dem Diodenlaser oder dem Erbium, Chromium doped: Yttrium, Scandium, Gallium und Garnet-Prinzip (Er,Cr: YSGG-Laser) beruhen, sind effektiv in der Biofilmbeseitigung und erzeugen bei korrekter Einstellung keine Oberflächenartefakte auf den Titanimplantaten (46, 47). Der nicht

chirurgischen Vorbehandlung kommt zwar eine elementare Bedeutung im Rahmen der Periimplantitistherapie zu, allerdings ist es nicht möglich, eine langfristige Reduzierung der Entzündungsparameter, insbesondere des BOP, durch ein alleiniges nicht chirurgisches mechanisches Oberflächendebridement zu erzielen (48,49). Weitere klinische Untersuchungen zeigten, dass diese Ergebnisse auch durch den unterstützenden Einsatz von lokal oder systemisch applizierten Antibiotika nicht verbessert werden konnten (50,51).

1.6.3.2 Chirurgische Behandlung:

Während des chirurgischen Eingriffes werden die periimplantären Strukturen dargestellt und meist auch erstmalig komplett einseh- und beurteilbar, sodass oftmals erst in diesem Schritt das eigentliche Vorgehen festgelegt werden kann. Die chirurgisch regenerative Therapie versucht mit den aktuell verfügbaren Knochenaufbaumethoden und Knochenersatzmaterialien das periimplantäre Knochenlager zu stärken beziehungsweise wieder her zu stellen. Mit aktuellen Möglichkeiten nicht zu augmentierende Bereiche werden einer sogenannten Implantatplastik zugeführt, um die modifizierten, meist angerauten, ehemals intraossären Implantatanteile zu glätten und somit Retentionsnischen für den Biofilmanteil zu beseitigen oder zumindest zu minimieren. Die chirurgisch resektive Therapie verfolgt die Reduzierung und Entfernung von bakteriellen Schlupfwinkeln, indem durch Reduktion der periimplantären Weichgewebe eine bessere Zugänglichkeit für die Mundhygienemaßnahmen im Bereich der vulnerablen Durchtrittsstelle des Implantates durch die Mundschleimhaut geschaffen wird. Eine klinische Untersuchung konnte zeigen, dass durch eine Kombination von Implantatplastik und chirurgisch resektiver Therapie im Rahmen eines Nachuntersuchungsintervalls von drei Jahren eine vollständige Überlebensrate zu erzielen war (52). Aktuelle Untersuchungen konnten ebenso den Therapieerfolg der Kombination aus chirurgisch resektiver und chirurgisch regenerativer Therapie innerhalb eines Nachuntersuchungsrahmens von zwei Jahren nachweisen (53).

1.7 Fragestellung:

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war, anhand eines vereinfachten und etablierten Versuchsmodells (54,55) native, bakterielle auf zahnärztlichen Implantaten gezüchtete Biofilme mit einer Titanbürste zu reinigen und deren Effektivität sowie Effizienz im Vergleich zu einer Standardtherapie zu evaluieren.

Weiterhin sollte mittels rasterelektronenmikroskopischer Untersuchungen nach möglichen Oberflächenartefakten beziehungsweise Beschädigungen gesucht werden, die eventuell durch die Behandlungsmethode auf der empfindlichen, strukturierten Titanoberfläche entstehen könnten. Ein weiterer Aspekt war die Untersuchung der Biokompatibilität der Titanoberflächen nach den Reinigungsmethoden und die Biofilmentfernung nach einem ebenfalls etablierten Modell mittels Zellkulturversuchen in Form von ATP-Messungen über Lumineszenzassays.

1.8 Arbeitshypothesen:

1. Ist die Effektivität der Titanbürste bei der Entfernung nativer initialer Biofilme auf Titanimplantatoberflächen größer als die einer Standardtherapie?
2. Ist die Effizienz der Titanbürste bei der Entfernung nativer initialer Biofilme auf Titanimplantatoberflächen größer als die einer Standardtherapie?
3. Sind nach der Bearbeitung der Titanimplantatoberflächen Artefakte nachweisbar?
4. Wird durch die Entfernung der nativen Biofilme von Titanimplantatoberflächen die Wiederherstellung einer biokompatiblen Oberfläche erreicht?

2. Material und Methoden

2.1 Probanden:

An der aktuellen Studie nahmen sechs gesunde, freiwillige Probanden teil. Das Durchschnittsalter der zwei weiblichen und vier männlichen Teilnehmer lag bei $27,3 \pm 3,14$ Jahren. Jeder Proband erhielt vor Studienbeginn eine ausführliche Patientenaufklärung und musste eine Einverständniserklärung zur Weiterverwendung des entnommenen biologischen Materials, in Form des auf Titanprobekörpern gesammelten Biofilms, für Forschungszwecke unterschreiben.

Das Studiendesign, die Patientenaufklärung und die Einverständniserklärung wurden durch die Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf geprüft und befürwortet (Studennummer: 3268).

2.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien:

- 1.) Die Probanden mussten eine gute Mundhygiene aufweisen. Diese wurde durch Erhebung des Plaqueindex (PI) kontrolliert. Für die Teilnahme an der Studie mussten die Probanden einen Indexwert von kleiner 1 erreichen.
- 2.) Es wurden ausschließlich Probanden eingeschlossen, die keine Anzeichen von akuten Entzündungen der oralen Mukosa oder umgebenden Weichgewebe aufweisen.
- 3.) Potentielle Teilnehmer, die innerhalb der letzten sechs Monate eine Antibiotikatherapie erhalten haben, wurden prinzipiell ausgeschlossen. Die Probanden wurden informiert und ausdrücklich darauf hingewiesen, eine im Verlauf der Studie beginnende zahnmedizinisch oder allgemeinärztlich indizierte Antibiotikatherapie unverzüglich zu melden. Dies hatte den Ausschluss aus der Studie zur Folge. Mit dieser Maßnahme sollten artifiziell herbeigeführte Veränderungen im

Keimspektrum und somit Einflüsse auf die Biofilmbildung ausgeschlossen werden.

4.) Es wurden ausschließlich Nichtraucher in diese Studie eingeschlossen.

Um eine vergleichbare Ausgangssituation bei allen Studienteilnehmern zu erreichen, wurde bei jedem Individuum vor Studienbeginn eine professionelle Zahnreinigung durchgeführt. Nach Abschluss der Studie erhielt ebenso jeder Proband eine professionelle Zahnreinigung.

2.3 Probekörper:

In der aktuellen Studie wurden Plättchen verwendet, die eine weit verbreitete Oberflächenstruktur des intraossären Anteils von zahnärztlichen Titanimplantaten (Titan Grad 4) wiedergeben sollen. Die Plättchen hatten einen Durchmesser von 15mm und eine Dicke von einem Millimeter, um auch den Probanden die Tragedauer so angenehm wie möglich zu gestalten. Jedes Plättchen hatte auf einer Seite eine gestrahlte und säuregeätzte Oberfläche (*sand blasted with large grids 0,25 – 0,5mm and acid etched* (Salzsäure und Phosphorsäure) *surface*, SLA, Institut Straumann AG, Basel, Schweiz). Die Titanplättchen hatten eine Rauigkeit von $Ra\ 3,22 \pm 0,88\mu m$.

2.4 Schienendesign:

Die Studienteilnehmer erhielten für jeden Durchgang jeweils eine neue Schiene, die im Tiefziehverfahren auf einem Hartgipsmodell hergestellt wurde. Die Schienen wurden für den Oberkiefer angefertigt. Jede Schiene war so gestaltet, dass jeweils vier Impressionen zur Aufnahme der Titanplättchen vorhanden waren (Abbildung 1). Die Plättchen wurden zusätzlich mit einem Cyanaacrylatkleber (Loctite 496, Henkel, Düsseldorf, Deutschland) an der nicht zu untersuchenden Unterseite befestigt, sodass diese beim Tragen eine Distanz von einem Millimeter zum Gaumen hatten. Auf diese Weise war eine feuchte und nährstoffreiche Umgebung, als Voraussetzung für eine gute

Biofilmbildung, gesichert. Durch das Tragen der Schiene im Oberkiefer und die Orientierung der Plättchen zum Gaumen hin wurden Störeinflüsse durch beispielsweise Zungen- oder Weichteilbewegungen ausgeschlossen, was eine ungestörte Biofilmbildung und für die Probanden eine erhebliche Verkürzung der Tragedauer zur Folge hatte. Die Schiene wurde durchgehend für eine Dauer von 48 Stunden getragen. Lediglich für die Durchführung der Mundhygienemaßnahmen durfte diese entfernt werden. Die Mundhygienemaßnahmen bestanden während der Tragzeit der Schiene ausschließlich in einer mechanischen Zahnreinigung. Diese durfte so oft durchgeführt werden, wie es der Patient für erforderlich hielt, allerdings durften keine zusätzlichen Hilfsmittel wie Zahnpasta oder Mundspüllösungen eingesetzt werden, um eine möglichst ungestörte Biofilmbildung zu ermöglichen. Die Patienten wurden gebeten, ihre alltäglichen Gewohnheiten in Bezug auf die Nahrungsaufnahme beizubehalten.

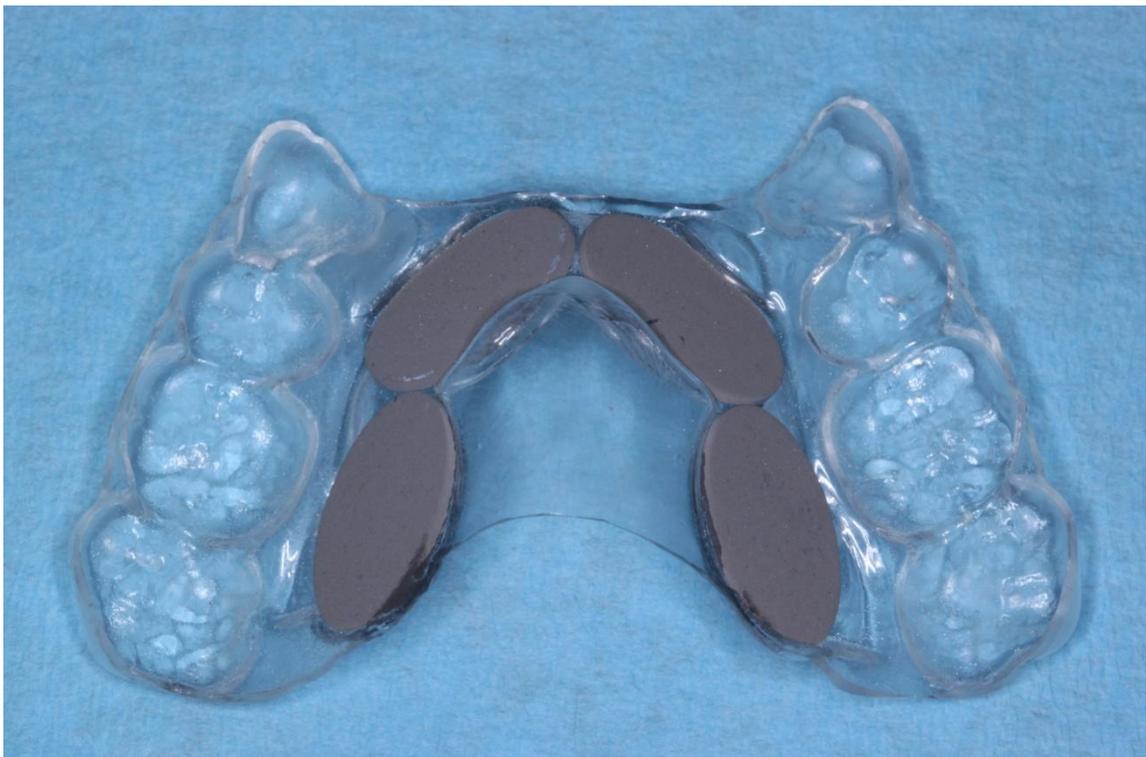


Abbildung 1: Beispiel einer mit vier Titanprobeplättchen beladenen Schiene.

Die Plättchen wurden in den Impressionen zusätzlich gegen Aspiration oder Verschlucken mit einem Kleber fixiert und gesichert. Aufgrund der gewählten Gestaltung haben Weichteile und Zunge keinen Zugang zu der untersuchten SLA-Oberfläche, wodurch die Tragezeit der Schiene zur Biofilmbesiedelung verkürzt wird. Der Frontzahnbereich ist für einen erhöhten Tragekomfort ausgespart.

2.5 Färbung des initialen Biofilms:

Unmittelbar nach Abschluss der Schientragedauer von 48 Stunden wurde die Schiene aus dem Probandenmund entnommen und die Plättchen jeweils aus der Schiene herausgelöst, was durch kleine Perforationen an der Unterseite der Schiene erleichtert wurde. Anschließend wurden die Plättchen vorsichtig in Wasser geschwenkt, um grobe Verunreinigungen oder Nahrungsreste zu entfernen. Danach wurde zur Visualisierung des oberflächlichen Biofilms eine Färbung mit Erythrosin (Erythrosine B, Certistain[®], Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Darauf folgend wurden die Plättchen bei einer achtfachen Vergrößerung mit Hilfe einer Stereolupe (SZ61, Olympus Europa Holding GmbH, Hamburg, Deutschland) und einer digitalen Kamera (ColorViewIII, Olympus Holding GmbH, Hamburg, Deutschland) fotografiert. Für die Untersuchungen im Rahmen dieser Studie wurden lediglich Plättchen mit einer homogenen und nahezu vollständigen initialen Biofilmbesiedelung (*initial plaque area*, IP) verwendet.

2.6 Durchführung der Oberflächenreinigung:

Eine Gesamtanzahl von 60 Plättchen wurde in die aktuelle Untersuchung eingeschlossen. Jeweils 30 Plättchen wurden einer der beiden Gruppen randomisiert zugeteilt. Eine Gruppe wurde mit Stahlküretten (Carver Maehlum LM-71-73, LM-instruments group – Planmeca group, Parainen, Finnland) unter einer Kraftapplikation von $0,25 \pm 0,05\text{N}$, welche mittels einer Laborwaage kontrolliert wurde, gereinigt. Die Reinigungsbewegungen erfolgten in linearer Richtung. Jede Kürette wurde für die Reinigung von 5 Plättchen eingesetzt. Vorversuche bestätigten die nicht nachlassende Reinigungseffektivität für zehn Plättchen pro Kürette. Die restlichen 30 Plättchen wurden mit der Reinigungsbürste aus Titan (TiBrush, Institut Straumann AG, Basel, Schweiz) behandelt (Abbildung 2). Diese wurde in einem oszillierenden Handstück bei 920 U/min und einem Anpressdruck von $0,25 \pm 0,05\text{N}$ eingesetzt (Abbildung 3). Dabei wurde die Bürste ebenfalls in linearen Bewegungen über das Plättchen geführt. Für jedes Plättchen wurde eine neue Bürste verwendet. Bei beiden

Reinigungsmethoden wurden die Titanplättchen in einem extra für diese Studie entwickelten Träger (Abbildung 4) eingespannt, der ein sicheres Fixieren der Plättchen sowie einen Abfluss der Spülflüssigkeit ermöglichte. Während des Reinigens wurden die Plättchen vorsichtig mit physiologischer Kochsalzlösung mit geringem Spül Druck gespült. In beiden Gruppen war der Endpunkt der Reinigungsprozedur als der Zeitpunkt definiert, an dem sich makroskopisch keine weiteren Beläge entfernen ließen. Die Reinigungszeit, die notwendig war, um diesen Punkt zu erreichen wurde als zusätzlicher Parameter festgehalten. Anschließend wurden die Probenplättchen sanft mit physiologischer Kochsalzlösung ab gespült und ein weiteres Mal mit Hilfe des Mikroskops und der digitalen Kamera fotografiert. Diese Aufnahmen wurden dazu genutzt, den Anteil der nach den Reinigungsprozeduren vorhandenen Restplaqueanteile (RPA) zu bestimmen.



Abbildung 2: Beispiel der benutzten Reinigungsinstrumente: oben abgebildet die Stahlkürette, unten die TiBrush



Abbildung 3: Darstellung der TiBrush, eingespannt in ein handelsübliches, rotierend und oszillierend arbeitendes Winkelstück.



Abbildung 4: Ansicht des speziell zur Durchführung dieser Versuche entwickelten und angefertigten Plättchenfixateurs.

Rechts zu sehen ist die Situation mit eingespanntem Plättchen. Ober- und unterhalb des Probekörpers befinden sich die Abflusskanäle für die Spülflüssigkeit. Links neben dem Fixateur befindet sich der konische Klemmbolzen, der durch Einführung in den Kanal links des Plättchens dieses sicher fixiert, sodass die Reinigung sicher durchgeführt werden kann.

2.7 Bestimmung der initialen Biofilmbesiedelung und der residualen Biofilmanteile nach Behandlung:

Für die histomorphometrische Analyse der Oberflächen der Probeplättchen und somit der Bestimmung der initialen Biofilmbesiedelung (*Initial Plaque*, IP) und der residualen Biofilmanteile (*Residual Plaque Areas*, RPA) wurden die fotografierten Plättchen mit Hilfe einer speziellen Software (Cell D, Olympus Europa GmbH, Hamburg, Deutschland) untersucht. Hierbei wurden pro Plättchen jeweils zehn quadratische Flächen der Größe vier mm² zufällig verteilt

und vermessen. Hierbei wurden Farbschwellenwerte der durch das Erythrosin rot angefärbten Biofilme sowie den grauen freien Titanoberflächen zugeteilt und quantitativ erfasst und als jeweiliger Prozentanteil festgehalten.

2.8 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen:

Für eine detailliertere bildliche Darstellung der Oberflächen wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Dafür wurden zusätzliche sechs Plättchen verwendet, wobei jeweils drei randomisiert den beiden Reinigungsmethoden zugeordnet wurden. Diese wurden keinem Färbevorgang unterzogen, sondern direkt den Reinigungsprozeduren zugeführt. Diese wurden vergleichbar zu denen unter Punkt 2.6 durchgeführt. Die Reinigungszeit wurde anhand der unter Punkt 2.6 ermittelten Daten festgelegt. Nach den Reinigungsvorgängen wurden die Plättchen vorsichtig mit Wasser gespült und mittels Durchlaufen einer aufsteigenden Acetonreihe von 40 bis 100% getrocknet. In jedem Wechselschritt wurde die Konzentration um zehn Prozent erhöht. Anschließend wurden die Proben in Hexamethyldisilzan getrocknet und mit Gold galvanobeschichtet. Daraufhin konnten die Aufnahmen in einer Vergrößerung von 500, 700 und 1500 mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskopes (S-3000N, Hitachi, Pleaston, USA) angefertigt werden.

2.9 Zellkulturtestungen:

Zehn zufällig ausgewählte Probeplättchen der RPA-Testung wurden pro Gruppe ausgewählt und autoklaviert sowie zusätzlich gegen zehn native, ungetragene SLA-Plättchen verglichen. Diese wurden zur Biokompatibilitätstestung der Oberflächen nach beiden Reinigungsprozeduren herangezogen. Da es sich bei der SLA-Oberfläche um eine Implantatoberflächenmodifikation handelt, die für den intraossären Bereich vorgesehen ist, wurden die Oberflächen mit osteoblastenähnlichen Zellen besiedelt. Hierfür wurden SAOS-2-Zellen gewählt. Pro Plättchen wurden jeweils 10000 SAOS-2-Zellen in 1ml Nährmedium angesetzt. Das Nährmedium

bestand auf der Basis des Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM high glucose, Glutamax; Sigma Aldrich, Schnelldorf, Deutschland), welches mit zehn Prozent fetalem Kälberserum (FBS, Sigma Aldrich, Schnelldorf, Deutschland) sowie einem Prozent Penicillin / Streptomycin (Penicillin / Streptomycin liquid, Life Technologies, Paisley, Schottland) versetzt wurde. Um ein möglichst gutes Anwachsen der Zellen auf den Titanoberflächen zu ermöglichen, wurden die Versuche in 24 well *non-binding*-Platten (Corning® Ultra-low attachment 24 well plate, Sigma Aldrich, Schnelldorf, Deutschland) durchgeführt. Die Zellkulturversuche wurden bei einer Luftfeuchtigkeit von 95%, einer Temperatur von 37°C und einem CO₂-Gehalt von fünf Prozent angesetzt. Das Nährmedium wurde für die Sechstageskontrolle an Tag drei gewechselt. Als Messzeitpunkte wurden Tag drei und Tag sechs nach Zellbesiedelung festgelegt. Die Zellviabilität wurde mit Hilfe eines Lumineszenzmessverfahrens (CellTiter-Glo®, Promega, Mannheim, Deutschland) mit einem Luminometer (Victor 2030, PerkinElmer, Rodgau, Deutschland) untersucht. Dafür wurde das Nährmedium abgesaugt, 500 Mikroliter Nährmedium wieder appliziert, dem dann weitere 500 Mikroliter Reagenzflüssigkeit zugesetzt wurden. Anschließend wurden die Platten für circa zwei Minuten auf einem Rüttler geschwenkt, so dass sich die Reagenzien homogen vermischen können. Die Wellplatte wurde dann bei Raumtemperatur für zehn Minuten inkubiert. Das Signal wurde in Impulsen pro Sekunde (*Counts per second*, CPS) gemessen, wobei jedes Well für die Zeitdauer von einer Sekunde, mit Intervallpause von einer Sekunde, acht Millimeter oberhalb des Plattenbodens vermessen wurde.



Abbildung 5: Beispiel einer mit den Probekörpern beladenen 24-Well-Zellkulturplatte zur Viabilitätsmessung

2.10 Statistische Auswertung:

Die statistische Analyse wurde mit Hilfe professioneller Analysesoftware (SPSS 20, IBM, Ehningen, Deutschland) durchgeführt. Es wurden die betreffenden Mittelwerte mit den dazugehörigen Standardabweichungen sowie die Mediane für die einzelnen Gruppen berechnet. Die Messwerte innerhalb der Gruppen wurden auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Test und Kolmogorov-Smirnov-Test geprüft. Die Ergebnisse der Gruppen bezüglich RPA wurden durch den Mann-Whitney U-Test auf signifikante Unterschiede geprüft, wobei Unterschiede als signifikant bei einem Level von $P < 0,05$ gesetzt wurden. Bezüglich Unterschiede in den Reinigungszeiten wurde mit Hilfe eines Zweistichproben-t-Tests für unabhängige Stichproben ermittelt. Für die Feststellung von Unterschieden zwischen den Gruppen bezüglich der Zellviabilitätsergebnisse wurde eine Varianzanalyse mit anschließender *post-hoc*-Testung mit Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Das Signifikanzniveau lag bei $P < 0,05$.

3. Ergebnisse:

3.1 Bestimmung der IP und RPA:

Nach der Tragezeit von 48 Stunden konnte eine homogene und vollständige Biofilmbesiedelung der SLA-Oberfläche nachgewiesen werden. Die mittlere IP lag bei $100 \pm 0,0\%$ (Abbildung 6). Es konnte gezeigt werden, dass beide Behandlungsmethoden eine signifikante Verringerung der Biofilm-besiedelten Oberfläche erreichen, $P < 0,05$. Nach der Behandlung mit der TiBrush konnte ein RPA von $8,57 \pm 4,85\%$ festgestellt werden. Nach der Behandlung mit der Stahlkürette wurde ein RPA von $28,96 \pm 5,51\%$ determiniert. Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen waren signifikant, $P < 0,05$ (Abbildung 7). Tabelle 8 gibt einen Überblick über die deskriptive Statistik.

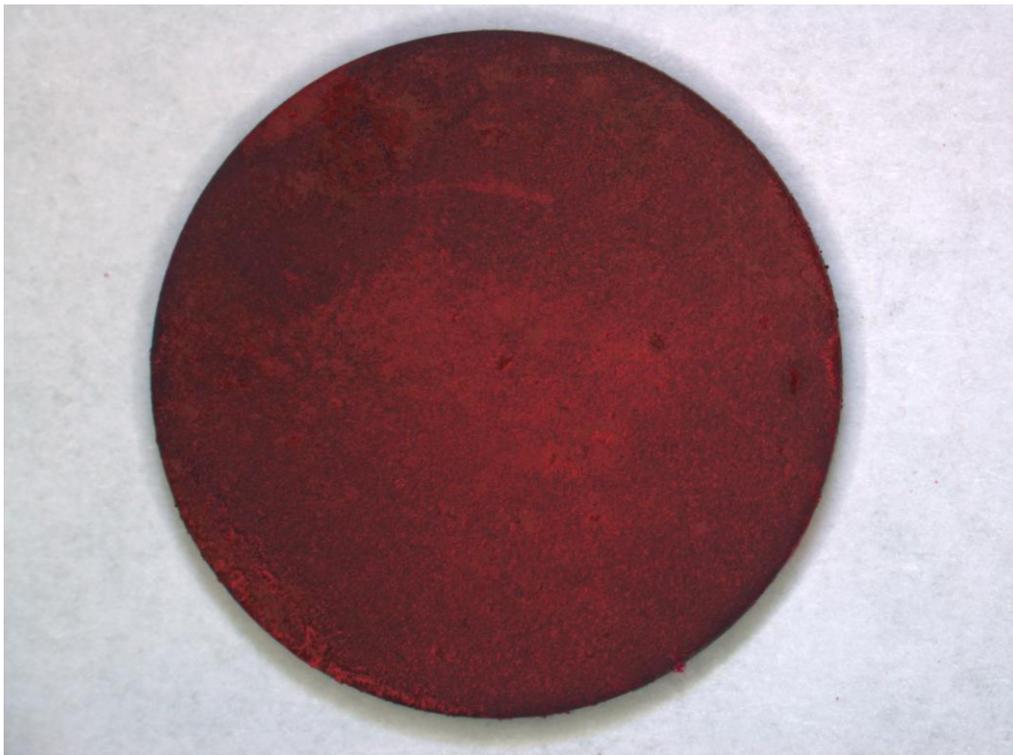


Abbildung 6: repräsentatives Beispiel eines Biofilm-besiedelten Probekörpers in achtfacher Vergrößerung nach Erythrosinfärbung. Die rot eingefärbten Bereiche markieren die von Biofilm bedeckten Bereiche des Probekörpers.

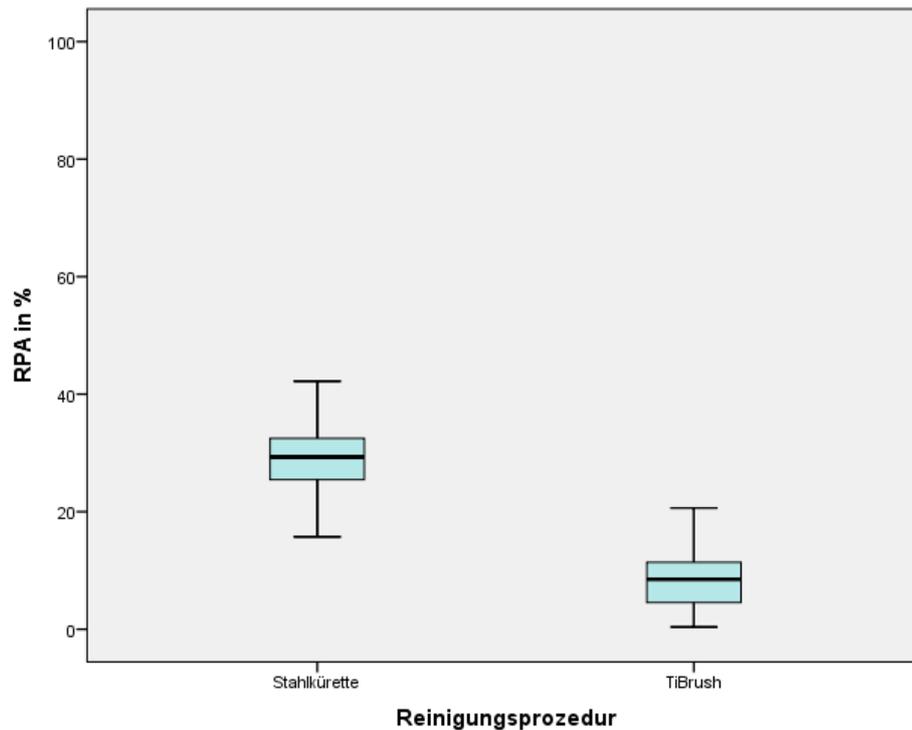


Abbildung 7: Übersicht über die RPA nach Behandlung mit den betreffenden Reinigungsprozeduren.

Bericht

Plaqueprozent

Reinigung	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	Median
Stahlkürette	300	28,9587	5,50535	,31785	29,3005
TiBrush	300	8,5695	4,84736	,27986	8,4902
Insgesamt	600	18,7641	11,44387	,46719	18,2916

Tabelle 8: Übersicht über die deskriptive Statistik zur RPA-Untersuchung

Diese Unterschiede konnten bereits makroskopisch festgestellt werden. Die Plättchen, die mit Stahlküretten bearbeitet wurden, wiesen eine deutlich rötlichere Einfärbung auf, als jene, die mit der TiBrush gereinigt wurden. Weiterhin deuten sich bereits makroskopisch sichtbare Oberflächenveränderungen auf den durch Stahlküretten behandelten Probekörpern an. Auf diesen sind deutliche Kratzspuren sichtbar. Die feinstrukturierte SLA-Oberfläche ist nach der Behandlung mit Stahlküretten

nicht gut erkennbar, währenddessen man auf den Plättchen, die mit TiBrush behandelt wurden, das homogene Relief gut erkennen kann (Abbildung 8).

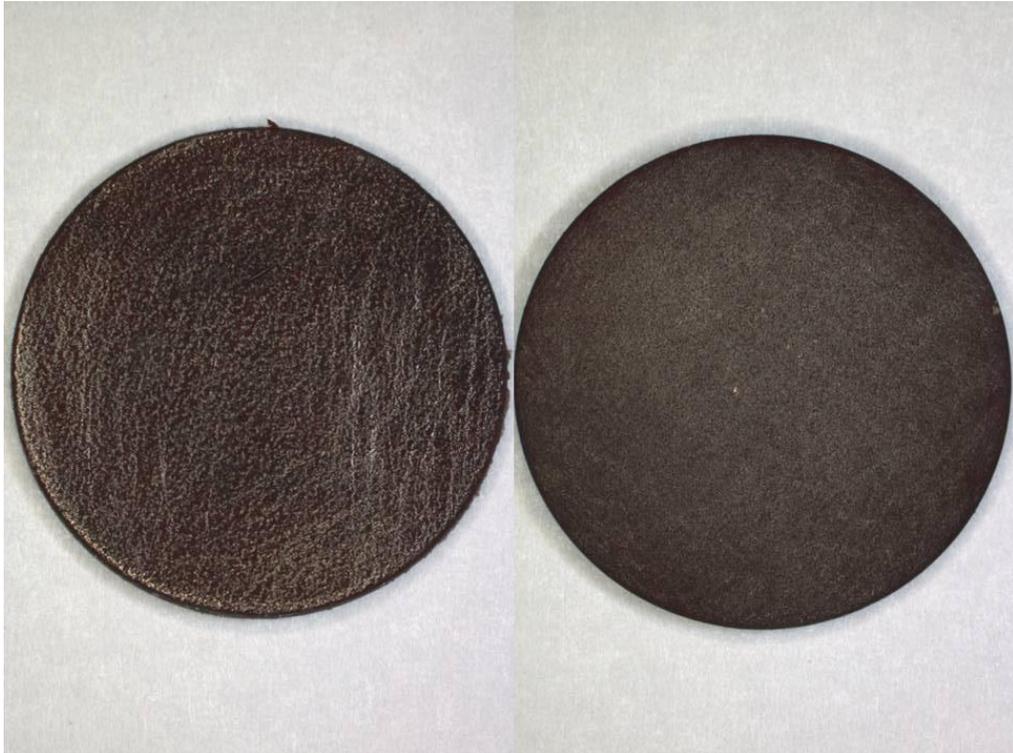


Abbildung 8: Makroskopische Aufsicht auf die Plättchen nach den Behandlungsprozeduren. Links befindet sich ein Probeplättchen, das mit Stahlküretten behandelt wurde; rechts ein Plättchen, das mit der TiBrush gereinigt wurde. Bereits in dieser Übersicht ist der höhere Restbiofilmanteil in Form der rotgefärbten Flächen auf dem linken Plättchen deutlich. Weiterhin zeigen sich Oberflächenveränderungen in Form von Kratzspuren auf der linken Seite.

Bei 40-facher Vergrößerung lichtmikroskopischer Betrachtungen werden die Unterschiede zwischen den Oberflächen nochmals deutlicher. Neben den erhöhten RPA-Anteilen nach der Behandlung mit den Stahlküretten im Vergleich zur TiBrush-Behandlung fallen insbesondere die strukturellen Unterschiede zwischen beiden Gruppen noch stärker auf (Abbildung 9).

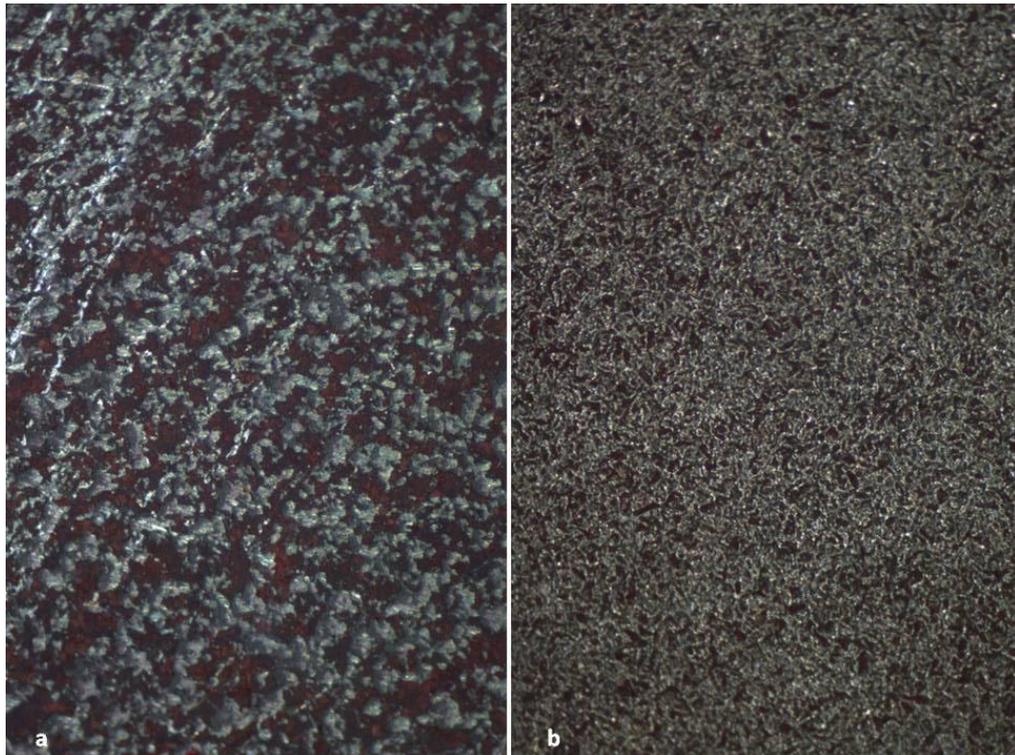


Abbildung 9: Lichtmikroskopische Aufnahmen der SLA-Oberfläche nach den Behandlungen mit Stahlkürette (links) und TiBrush (rechts) in 40-facher Vergrößerung. Links abgebildet ist die mit Stahlküretten behandelte SLA-Oberfläche (a), auf der deutliche Kratzspuren sowie ein im Vergleich höherer Restbiofilmanteil (rot eingefärbt) nachweisbar sind. Man sieht im Vergleich zur rechten Seite, die mit der TiBrush behandelt wurde (b), dass links das Mikrorelief an den gereinigten Stellen völlig abgeplattet und zerstört erscheint, währenddessen rechts die Mikrorauigkeit gut nachvollziehbar ist.

3.2 Bestimmung der Reinigungszeit:

Die mittlere Reinigungszeit, die zum Erreichen des Punktes nötig war, an dem makroskopisch keine weitere Plaque beseitigt werden kann, war in der TiBrush-Gruppe mit $176.7s \pm 15.2s$ gemessen worden, währenddessen in den Gruppen mit der Stahlkürettenbehandlung die mittlere Reinigungszeit bei $303.5s \pm 11.5s$ lag. Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen waren signifikant, $P < 0,05$ (Abbildung 10). Die deskriptive Statistik bezüglich der benötigten Reinigungszeiten wird in Tabelle 9 zusammengefasst.

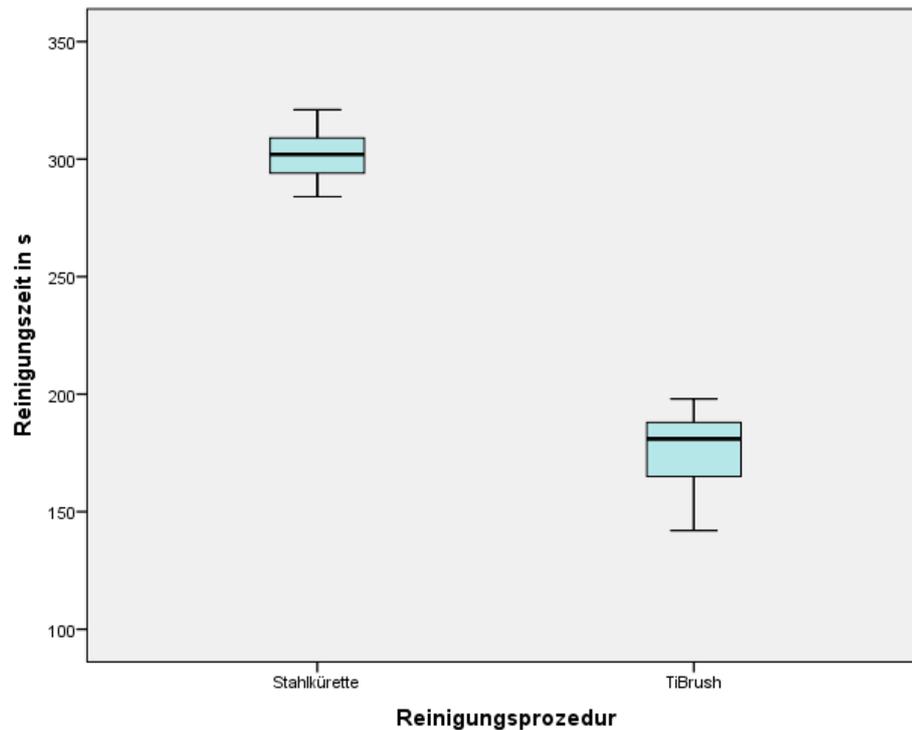


Abbildung 10: Übersicht über die benötigte Reinigungszeit, die nötig war, bis zu dem Zeitpunkt, an dem keine weitere Biofilmentfernung makroskopisch sichtbar möglich war.

Bericht

Zeit

Reinigung	N	Mittelwert	Standard- abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	Median
Stahlkürette	30	303,47	11,542	2,107	302,50
TiBrush	30	176,70	15,175	2,771	181,00
Insgesamt	60	240,08	65,301	8,430	241,00

Tab.9: Übersicht über die deskriptive Statistik zur Untersuchung der benötigten Reinigungszeit.

3.3 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen:

Auf den ungetragenen Probeplättchen konnte die typische SLA-Oberfläche mit ihren scharfkantigen, spitzen Erhebungen und mit ihren Mikroporositäten nachgewiesen werden (Abbildung 11). Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten den nach 48 Stunden alten, nativen Biofilm deutlich veranschaulichen (Abbildung 12). Hierbei ist neben der durch die extrazelluläre Matrix bedingten, unscharfen Fokussierung in den Bereichen mit sichtbarer SLA-Oberfläche die Verkrustung besonders auffällig. In der Gruppe, die mit der TiBrush behandelt wurde, konnten vereinzelte Restbiofilmanteile nachgewiesen werden. Dies bestätigt das Ergebnis der RPA. Die gereinigten Areale, welche frei von Biofilm waren, zeigten die gleichen Eigenschaften wie die ungetragenen Plättchen. Auf den Bildern wurden ebenfalls die typischen scharfkantigen Erhebungen der SLA-Oberfläche sichtbar. Es ergaben sich keinerlei Hinweise auf mögliche Kratzartefakte oder andere Oberflächenveränderungen durch die Behandlung mit der TiBrush (Abbildung 13). Bei den Auswertungen der Bilder der Stahlküretten-Gruppe war ein, im Vergleich zu der mit der TiBrush behandelten Gruppe, erhöhter Anteil der Titanoberfläche noch anhaftendem Biofilms auffällig. Dies bestätigen ebenfalls die Ergebnisse der RPA-Untersuchung. Bei den Untersuchungen der Stahlküretten-Gruppe waren außerdem Oberflächenartefakte in Form von abgeflachten Bereichen in den gesäuberten Arealen nachweisbar. Die SLA-Oberfläche erscheint in den gereinigten Bereichen nicht mehr komplett intakt nach der Behandlung mit Stahlküretten (Abbildung 14).

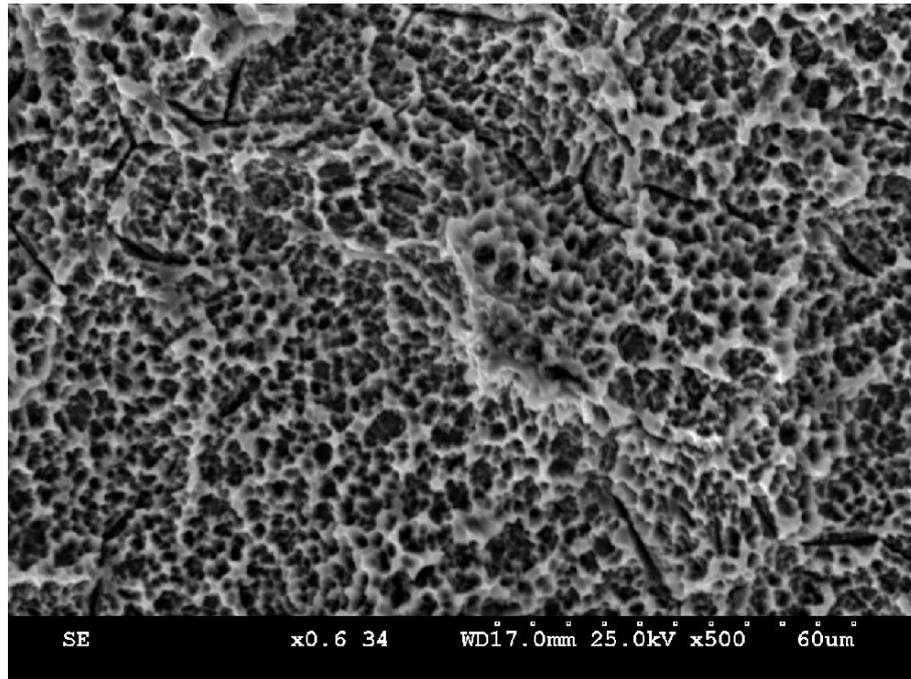


Abbildung 11: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer nativen SLA-Oberfläche in 500-facher Vergrößerung.

Auffällig sind hierbei die typischen Makro- und Mikroporositäten und die für die SLA-Oberfläche typischen scharfkantigen und spitzen Erhebungen.

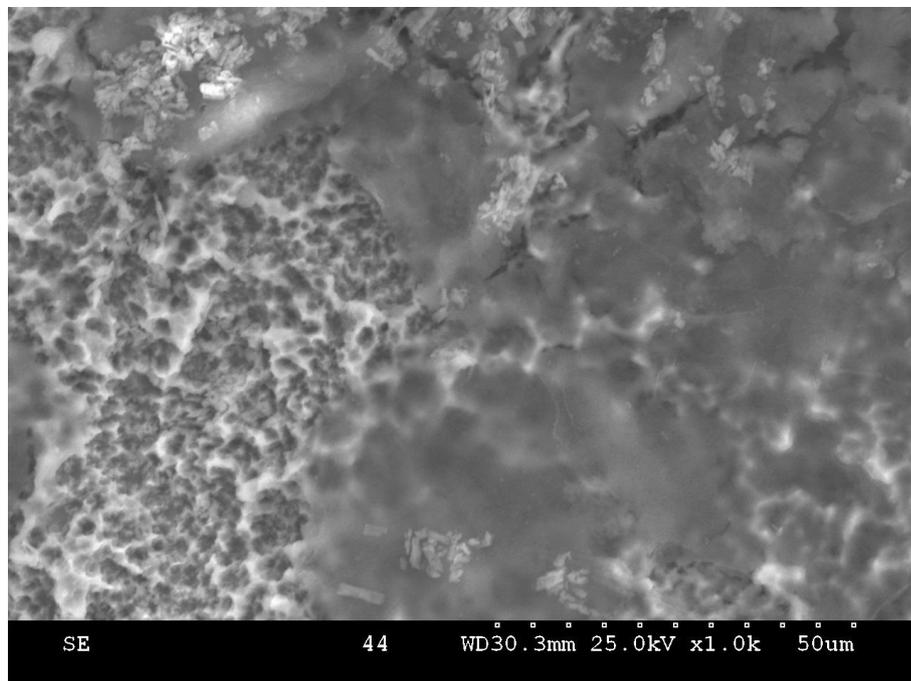


Abbildung 12: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines nativen, initialen Biofilmes auf einer SLA-Oberfläche in 1000-facher Vergrößerung. Der Hauptanteil der SLA-Oberfläche erscheint verdeckt. Bereiche in denen SLA-Oberfläche erahnt werden kann, sind aufgrund der extrazellulären Matrix nicht fokussierbar.

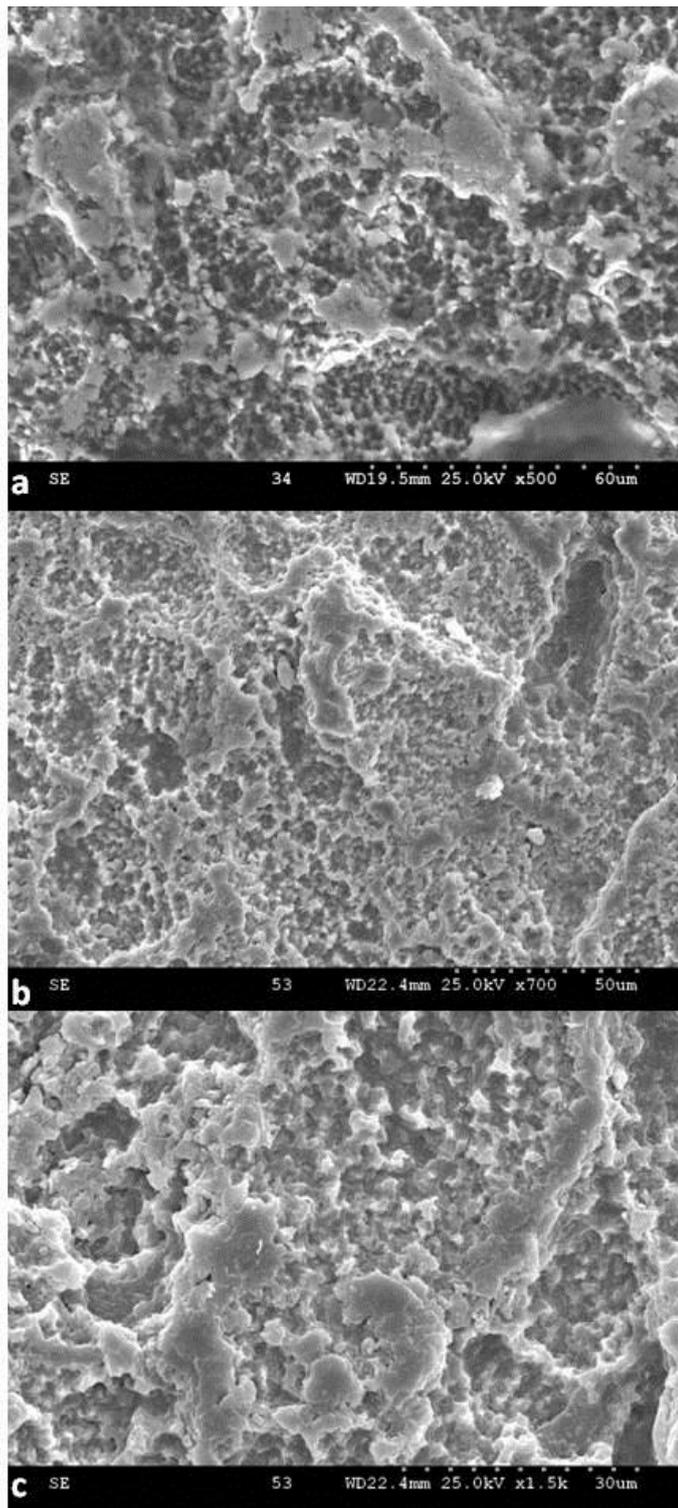


Abbildung 13: repräsentative, rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer biofilmbesiedelten SLA-Oberfläche nach Behandlung mit TiBrush in 500-facher (a), 700-facher (b) und 1500-facher Vergrößerung (c).

Zu erkennen sind Restbiofilmanteile und SLA-Oberflächenanteile, die frei von Biofilm sind. Letztere Areale sind von einer nativen SLA-Oberfläche nicht zu unterscheiden.

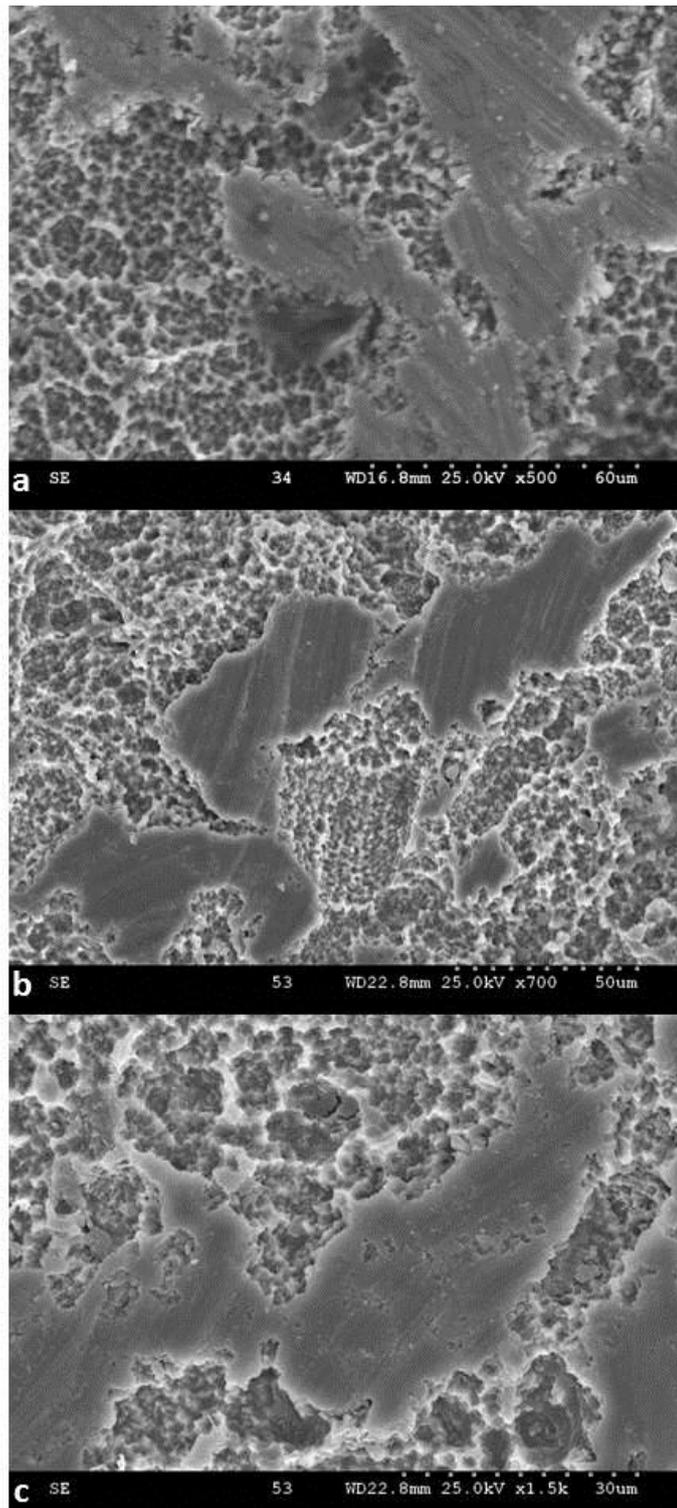


Abbildung 14: repräsentative, rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer biofilmbesiedelten SLA-Oberfläche nach Behandlung mit einer Stahlkürette in 500-facher (a), 700-facher (b) und 1500-facher Vergrößerung (c).

Neben dem großen Anteil an residualem Biofilm sind des Weiteren auch Oberflächenartefakte wie Abflachungen und Abrundungen der sonst für die SLA-Oberfläche typischen spitzen Erhebungen gut erkennbar.

3.4 Zellkulturuntersuchungen:

Während der gesamten Zeit der Zellkulturtestungen wurden keine Anzeichen für bakterielle oder Pilzinfektionen beobachtet. An beiden Messzeitpunkten wurden die höchsten Werte innerhalb der Kontrollgruppen, also den ungetragenen, nativen SLA-Plättchen festgestellt (Abbildung 15). An Tag drei wurden folgende Messwerte für die Zellviabilität in absteigender Reihenfolge gemessen:

- 1.) SLA nativ 83552 CPS \pm 5642.37 CPS
- 2.) Stahlkürette 14644 CPS \pm 11938.44 CPS
- 3.) TiBrush 744 CPS \pm 642.1 CPS

An Tag sechs wurde folgende Reihenfolge detektiert:

- 1.) SLA nativ 179542 CPS \pm 37128.46 CPS
- 2.) Stahlkürette 8440.8 CPS \pm 8607.4 CPS
- 3.) TiBrush 836 CPS \pm 416.75 CPS

Die Unterschiede zwischen den nativen SLA-Gruppen und den beiden anderen Testgruppen zu den jeweiligen korrespondierenden Testgruppen waren signifikant, $P < 0,05$. Zwischen den beiden Testgruppen, TiBrush und Stahlkürette, wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Allerdings war auffällig, dass sowohl in der Kontrollgruppe der nativen SLA-Plättchen als auch in der TiBrush-Gruppe die Zellviabilität von Tag drei auf Tag sechs anstieg beziehungsweise annähernd konstant blieb, währenddessen in der Stahlküretten-Gruppe eine Abnahme um circa die Hälfte zu verzeichnen war. Tabelle 10 und 11 fassen die deskriptive Statistik der Zellkulturversuche sowie die Mittelwertvergleiche zusammen.

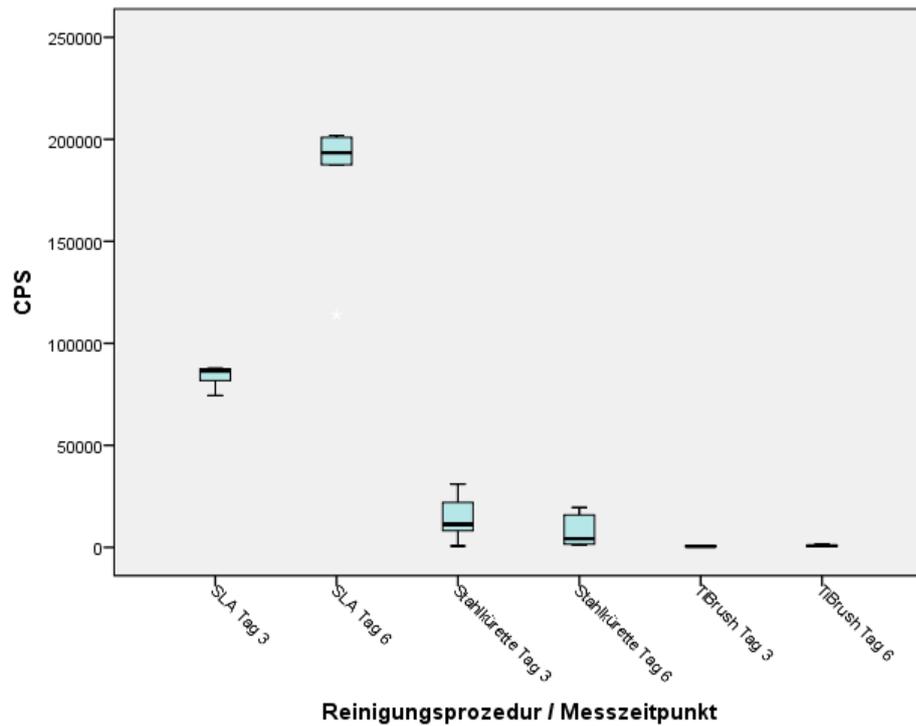


Abbildung 15: Übersicht über die Zellviabilitäten auf den verschiedenen Plättchenoberflächen an zwei Messzeitpunkten.

Die Zellkontrolle auf den ungetragenen, nativen Plättchen zeigt deutlich höhere Messwerte als beide Testgruppen, zwischen denen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten.

Bericht

CPS

Treat Day	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standardfehler des Mittelwertes	Median
SLA day 3	5	83552,00	5642,368	2523,344	86350,00
SLA day 6	5	179542,00	37128,462	16604,353	193380,00
steel cur day 3	5	14644,00	11938,437	5339,031	11320,00
steel cur day 6	5	8440,80	8607,404	3849,348	4200,00
TiBr day 3	5	744,00	642,090	287,152	480,00
TiBr day 6	5	836,00	416,749	186,376	720,00
Insgesamt	30	47959,80	68234,390	12457,838	9740,00

Tabelle 10: Übersicht über die deskriptive Statistik der Zellkulturuntersuchungen zur Biokompatibilitätsbestimmung.

Mehrfachvergleiche

CPS

Bonferroni

(I) TreatDay	(J) TreatDay	Mittlere Differenz (I-J)	Standard-fehler	Signifi-kanz	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
SLA day 3	SLA day 6	-95990,000 [*]	10416,521	,000	-129931,00	-62049,00
	steel cur day 3	68908,000 [*]	10416,521	,000	34967,00	102849,00
	steel cur day 6	75111,200 [*]	10416,521	,000	41170,20	109052,20
	TiBr day 3	82808,000 [*]	10416,521	,000	48867,00	116749,00
	TiBr day 6	82716,000 [*]	10416,521	,000	48775,00	116657,00
SLA day 6	SLA day 3	95990,000 [*]	10416,521	,000	62049,00	129931,00
	steel cur day 3	164898,000 [*]	10416,521	,000	130957,00	198839,00
	steel cur day 6	171101,200 [*]	10416,521	,000	137160,20	205042,20
	TiBr day 3	178798,000 [*]	10416,521	,000	144857,00	212739,00
	TiBr day 6	178706,000 [*]	10416,521	,000	144765,00	212647,00
steel cur day 3	SLA day 3	-68908,000 [*]	10416,521	,000	-102849,00	-34967,00
	SLA day 6	-164898,000 [*]	10416,521	,000	-198839,00	-130957,00
	steel cur day 6	6203,200	10416,521	1,000	-27737,80	40144,20
	TiBr day 3	13900,000	10416,521	1,000	-20041,00	47841,00
	TiBr day 6	13808,000	10416,521	1,000	-20133,00	47749,00
steel cur day 6	SLA day 3	-75111,200 [*]	10416,521	,000	-109052,20	-41170,20
	SLA day 6	-171101,200 [*]	10416,521	,000	-205042,20	-137160,20
	steel cur day 3	-6203,200	10416,521	1,000	-40144,20	27737,80
	TiBr day 3	7696,800	10416,521	1,000	-26244,20	41637,80
	TiBr day 6	7604,800	10416,521	1,000	-26336,20	41545,80
TiBr day 3	SLA day 3	-82808,000 [*]	10416,521	,000	-116749,00	-48867,00
	SLA day 6	-178798,000 [*]	10416,521	,000	-212739,00	-144857,00
	steel cur day 3	-13900,000	10416,521	1,000	-47841,00	20041,00
	steel cur day 6	-7696,800	10416,521	1,000	-41637,80	26244,20
	TiBr day 6	-92,000	10416,521	1,000	-34033,00	33849,00
TiBr day 6	SLA day 3	-82716,000 [*]	10416,521	,000	-116657,00	-48775,00
	SLA day 6	-178706,000 [*]	10416,521	,000	-212647,00	-144765,00
	steel cur day 3	-13808,000	10416,521	1,000	-47749,00	20133,00
	steel cur day 6	-7604,800	10416,521	1,000	-41545,80	26336,20
	TiBr day 3	92,000	10416,521	1,000	-33849,00	34033,00

* Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

Tabelle 11: Übersicht über die Mittelwertvergleiche mittels post hoc Testung (Bonferroni Korrektur)

4. Diskussion:

Ziel der aktuellen Studie war die Untersuchung einer neuartigen Titanbürste bei Untersuchungen der Oberflächenreinigung von kontaminierten Implantatoberflächen. Es sollte die Situation einer Periimplantitis simuliert werden. Durch entzündungsbedingte Resorption des knöchernen Implantatlagers kommen vormals korrekt intraossär gesetzte Bereiche frei zum Liegen und es lagern sich Biofilme auf diesen nun ungeschützten Oberflächen an. Eine weit verbreitete Oberflächenform auf dentalen Implantaten, die speziell für den intraossären Bereich entwickelt wurde, ist die säuregeätzte und grobkörnig sandgestrahlte SLA-Oberfläche. Daher wurde diese Oberflächenmodifikation für die aktuellen Untersuchungen gewählt. Einige Studien züchten Biofilme *in vitro* unter Laborbedingungen und verwenden hierfür ausgewählte Bakterien, die mit periimplantären Entzündungen assoziiert sind. Danach werden die Probekörper, die in der aktuellen Studie als Probeplättchen gewählt wurden, mit verschiedenen Reinigungs- und Dekontaminationsmethoden bearbeitet und mittels Nachuntersuchungen die Effektivität der Prozeduren evaluiert. Manche Studien untersuchen hierbei eventuell mehrere Bakterienarten und die Effekte der Dekontaminationsmethoden auf diese Keime, allerdings werden in einigen Untersuchungen die Probekörper mit lediglich einer Bakterienart inkubiert (56). Diese Vorgehensweise untersucht die Effekte der unterschiedlichen Prozeduren auf die einzelnen verwendeten Bakterienspezies und könnte diesbezüglich neue Informationen liefern, allerdings sind solche Untersuchungen nur schwer mit den Bedingungen zu vergleichen, die in einem natürlichen Biofilm vorliegen. In einem Biofilm sind gerade die Wechselwirkungen und symbiotischen Effekte für die Ausbildung der schützenden Einflüsse auf die einzelnen Bakterienspezies essentiell. Da die aktuellen Studien den Einfluss der TiBrush an natürlichem Biofilm untersuchen sollte, konnte folglich die bakterielle *in vitro* Besiedelung der Probekörper nicht gewählt werden. Der Biofilm, der für die aktuelle Studie auf den Plättchen vor den Reinigungsprozeduren vorhanden sein sollte, musste folglich auf natürliche Art und Weise entstehen und musste demzufolge intraoral bei Patienten gesammelt werden. Dafür wurde sich an vorhergehenden Studien orientiert, die bereits erfolgreich dieses Modell

etabliert hatten. Ein anderes Schienendesign wurde in vergleichbaren Studien verwendet (57). Diese Arbeitsgruppe verwendete ebenfalls Schienen, die im Oberkiefer getragen wurden, allerdings wurden die Probekörper vestibulär angebracht. Die Plättchen wurden im Bereich des seitlichen Inzisivus bis zum zweiten Molaren befestigt. Durch dieses Schienendesign war das Unterbringen von bis zu 14 Plättchen in einem Kiefer, sieben Plättchen pro Seite, möglich. Allerdings war der Durchmesser der Plättchen, die im Rahmen dieser Studie verwendet wurden, bei neun Millimeter festgesetzt worden. In der aktuell durchgeführten Studie wurden Plättchen eines Durchmessers von 15mm verwendet, deren Unterbringung auf der vestibulären Seite problematisch geworden wäre. Ein weiterer Unterschied bestand darin, dass der Biofilm auf der bukkalen Seite gesammelt wurde. So wurde bei Gosau et al. zwar die Bewegung der Zunge durch das Tragen der Schiene im Oberkiefer ausgeschlossen, um eine ungestörte Biofilmsammlung zu ermöglichen, allerdings unterliegen die Plättchen durch die bukkale Lage der Fläche, auf der der Biofilm gesammelt wird, den Einflüssen der Bewegungen der Wangenweichteile. Durch das Schienendesign, das in unserem aktuellen Versuch verwendet wurde, wurde jegliche Störung der Biofilmbildung ausgeschlossen, indem die Plättchen zum Gaumen hin gerichtet waren. Somit waren die Plättchen weder Zungenbewegungen noch Einflüssen der Wangenweichteile ausgesetzt. Die Schienen, die in den Versuchen von Gosau et al. verwendet wurden, waren so gestaltet, dass die Plättchen natürlich gegen Aspiration gesichert sein mussten. Dies geschah in diesem Falle so, dass die Probekörper durch einen überstehenden Haltering, der den Rand der Plättchen bedeckte und diese somit gegen unerwünschtes Herauslösen sicherte, fixiert wurden. Allerdings ist es sehr wahrscheinlich, dass gerade unter diesem Haltering keine Biofilmformation möglich war und somit ein gewisser Anteil der Probekörperoberfläche für die Versuche nicht nutzbar war. Der Aspirationsschutz wurde in unserem Falle durch die Größe der Plättchen erreicht, die sich aufgrund des 15mm Durchmessers auch im Falle eines Herauslösens nicht unter der Schiene hätten hervor bewegen können. Die Impressionen in der Schiene waren so gestaltet, dass diese die Plättchen im Randbereich seitlich fassen und im Sinne einer Klemmfassung fixieren, allerdings nicht auf die Plättchenoberfläche reichen. Ein zusätzlicher Schutz

gegen Herauslösen der Plättchen wurde durch die Fixierung mittels Cyanaakrylatkleber erreicht. Da dieser nur sparsam auf der Unterseite der Plättchen verwendet wurde, hatte dieser keinen Einfluss auf die Plaquebildungsrate. Durch diese Gestaltung unseres Schienendesigns und der Ausrichtung der Plättchen war die vollständige Fläche der Titankörper nutzbar. Ein weiteres wichtiges Kriterium in Bezug auf das Schienendesign ist der Tragekomfort und damit die Akzeptanz beim Schienenträger. In unserem Versuch, der eine durchgehende Tragedauer von 48 Stunden vorsah, ist nur durch einen hohen Tragekomfort der Schiene eine entsprechend benötigte Compliance bei den Probanden zu erreichen. Durch die Wahl von lediglich einem Millimeter Dicke der Probekörper in unserem Versuch, waren die Schienen angenehm zu tragen und hatten lediglich minimale Beeinträchtigungen, wie beispielsweise der Sprache, im Alltag zur Folge. In den Untersuchungen von Gosau et al. wurden doppelt so dicke Plättchen verwendet, was in Verbindung mit der vestibulären Lage und der dort befindlichen empfindlicheren Wangenweichteile sicherlich im Alltag stärkere Nachteile für die Träger und damit eine schlechtere Akzeptanz bei den Probanden zur Folge gehabt hätte. Während der Tragedauer wurden den Studienteilnehmern bei Gosau et al. eine Nahrungsaufnahme sowie die Durchführung von Mundhygienemaßnahmen untersagt. Die ist natürlich mit der kurzen Tragezeit von 12 Stunden über Nacht, die in dieser Studie festgelegt war, vereinbar. Allerdings wird nicht erwähnt, ob zusätzliche Hilfsmittel, wie Zahnpasta oder Mundspüllösungen, bei der letzten Zahnreinigung vor Einsetzen der Schiene eingesetzt werden durften. Somit wäre es denkbar, dass diese Adjuvantien, insofern sie eingesetzt wurden, durch eine gewisse Nachwirkung nach der Anwendung einen negativen Einfluss auf die initiale Biofilmadhärenz beziehungsweise die Biofilmbildung gehabt haben. Dieser Ansatz könnte auch den hohen Anteil toter Bakterien in der Kontrollgruppe, die mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (*phosphate buffered saline*, PBS) behandelt wurde, erklären. In unserer aktuellen Studie wurden die Schienen tagsüber während der Sprechzeiten der Klinik den Probanden eingesetzt, sodass diese nicht in der Lage waren, direkt vorher nochmals Mundhygienemaßnahmen mit entsprechenden Zusätzen durchzuführen. Ein Teil der Patientenaufklärung für diese aktuelle Studie war die Information für die

Patienten, dass die Durchführung der Mundhygienemaßnahmen für die Tragedauer von 48 Stunden rein mechanisch und somit ohne chemische Zusätze wie Zahnpasten oder Mundspüllösungen erfolgen musste. Dadurch war eine negative Beeinflussung auf die Biofilmbildung von dieser Seite aus ausgeschlossen. Das Beibehalten der gewohnten Ernährung während der Tragezeit in unserer Studie ermöglicht eine nährstoffreichere Umgebung und lehnt sich darüber hinaus deutlich näher an die natürliche Situation der Biofilmentstehung an.

In der aktuellen Studie konnte nach 48 Stunden Tragezeit der Schiene auf allen verwendeten Probekörpern eine vollständige und homogene Biofilmbesiedelung nachgewiesen werden. Dies bestätigt die Resultate anderer Studien (44,55,58), in denen bereits nach einer Tragezeit von 24 Stunden eine annähernd vollständige Bedeckung der Probekörperoberflächen mit einem homogenen Biofilm beobachtet werden konnte. Weitere Versuchsreihen, die mit identischen Probekörpern, einem vergleichbaren Schienendesign und der gleichen Tragezeit der Schiene durchgeführt wurden, lieferten auch exakt identische Werte für die initiale Biofilmbesiedelung von $100 \pm 0,0\%$ (38,59,60). Allerdings bleibt festzuhalten, dass es sich bei sämtlichen erwähnten Studien um Versuchsmodelle handelt, die eine reife, supragingivale Plaque sammeln und Untersuchungen an jener durchführen. Die Situation einer subgingivalen Tasche zu imitieren und dabei noch solch große Probekörper, die für die Untersuchungen von Reinigungsprozeduren erforderlich sind, geeignet unterbringen zu können ist nach aktuellem Wissensstand nicht möglich. Der untersuchte supragingivale Biofilm ist mit dem subgingivalen Biofilm, der die hauptsächliche Ursache der Periimplantitis darstellt, nicht zu vergleichen. Der subgingivale Biofilm zeigt sich mineralisiert und ist mit Calciumphosphatkristallen durchsetzt, was ihn deutlich beständiger und von härterer Konsistenz erscheinen lässt, als den supragingivalen, nicht mineralisierten Biofilm, der in der vorliegenden Untersuchung bearbeitet wurde (61). Dies ist wiederum für die Interpretation und Einordnung der in der aktuellen Studie gewonnenen Ergebnisse von hoher Bedeutung, da die Entfernung subgingivaler Plaque deutlich schwieriger durchzuführen ist und somit die eigentliche Herausforderung darstellt.

Die in der aktuellen Studie getesteten Vorgehensweisen zur Oberflächenreinigung von SLA-Titanoberflächen konnten beide eine signifikant verringerte RPA im Vergleich zur IP liefern, bei einem Signifikanzlevel von $P < 0,0001$. Beide Methoden erscheinen daher effektiv. Nach der Oberflächenbearbeitung mittels TiBrush konnte eine mittlere RPA von $8,57 \pm 4,85\%$ nachgewiesen werden, währenddessen nach der Bearbeitung mittels Stahlküretten eine mittlere RPA von $28,99 \pm 5,51\%$ gemessen wurde. Dieser Unterschied war ebenfalls signifikant. Somit kann Arbeitshypothese 1 bestätigt werden, indem die Reinigungseffektivität der TiBrush signifikant höher einzustufen ist, als jene der Stahlküretten. Die RPA, die in diesem aktuellen Versuch mittels Stahlküretten erreicht wurde, war niedriger als die RPA, die in anderen Versuchen unserer Arbeitsgruppe mittels Behandlung mit Plastikküretten ($61,1 \pm 11,4\%$) angegeben wurde (44). Sicherlich ist ein Teil dieses Unterschiedes auf die höhere Härte der Stahlküretten und damit deren andere Wirkungsweise zu zuschreiben. Durch die teilweise Zerstörung und Abflachung der SLA-Oberfläche durch die Behandlung mit Stahlküretten, welche auch in diesen aktuellen Untersuchungen nachgewiesen werden konnte, werden die Stahlküretten eine etwas größere Eindringtiefe erreichen und dadurch sicherlich einen größeren Anteil der Biofilme erreichen, was mit den Plastikküretten nicht möglich ist. Allerdings bleibt auch zu berücksichtigen, dass in diesem Versuch von Schwarz et al. eine kürzere Tragedauer der Schienen und somit eine kürzere Zeit zur Biofilmentstehung angesetzt wurde. In diesen Versuchen war die Biofilmsammelzeit auf 24 Stunden festgelegt und dadurch ist zu erwarten, dass die Plaque, die in dem aktuellen Versuch bearbeitet wurde, einen höheren Reifegrad und ebenfalls eine etwas höhere Stabilität sowie eine größere Resistenz gegen mechanische äußere Einflüsse hatte. Daher sind beim Vergleich beider Untersuchungsreihen gewisse Tendenzen erkennbar, die Ergebnisse beider Studien allerdings nicht direkt miteinander vergleichbar. Ähnlich müssen auch die Ergebnisse bezüglich der anderen Testgruppen beider Studien eingeordnet werden. In den Untersuchungen von Schwarz et al. wurden nach Oberflächenbehandlung mittels Ultraschallscaling eine mittlere RPA von $36,8 \pm 4,5\%$ festgestellt. Die Behandlung mit einem Er:YAG-Laser stellte sich in dieser Untersuchungsreihe als effektivstes Hilfsmittel zur Oberflächendekontamination der SLA-

Oberflächen heraus und lieferte einen mittleren RPA-Wert von $5,8\% \pm 5,1\%$. Dieser erscheint als Zahlenwert den $8,57\%$ RPA, den die TiBrush in den aktuellen Studien lieferte, etwas geringer, ist aber aufgrund der eben diskutierten geringeren Reife der gesammelten Biofilme bei Schwarz et al. als mindestens ebenbürtig einzuschätzen. Beide Studien waren ähnlich aufgebaut, indem die benötigte Reinigungszeit als Parameter erhoben wurde. Der Endpunkt der Reinigungszeit wurde in beiden Untersuchungsreihen als jener festgelegt, an dem sich durch die jeweilige Behandlungsmethode makroskopisch keine weitere Plaque ablösen lässt. Bei Schwarz et al. wurde mit $5,6 \pm 1,2\text{min}$ die längste Reinigungszeit für die Gruppe gemessen, die mit dem Er:YAG behandelt wurde, gefolgt von den Gruppen, die mit Ultraschall ($2,4 \pm 0,5\text{min}$) beziehungsweise mit Plastikküretten ($2,3 \pm 0,5\text{min}$) behandelt wurden, wobei der Unterschied der beiden letzteren Gruppen signifikant zur Er:YAG-Lasergruppe war. Dem gegenüber stehen die Ergebnisse der aktuellen Studie, in der mit $303,5 \pm 11,4\text{s}$ die längere mittlere Reinigungszeit in der Gruppe gemessen wurde, die mit Stahlküretten behandelt wurde, im Vergleich zu der benötigten mittleren Reinigungszeit von $176,7 \pm 15,2\text{s}$, die in der TiBrush-Gruppe erhoben wurde. Da die benötigte Reinigungszeit in der TiBrush-Gruppe signifikant geringer war als in der Stahlkürettengruppe, kann auch Arbeitshypothese 2 bestätigt werden: die Benutzung der TiBrush erweist sich als effizienter im Vergleich zur Anwendung von Stahlküretten. Den Zahlenwerten zur Folge lieferten somit die Gruppen der Plastikküretten und Ultraschallbehandlung bei Schwarz et al. eine kürzere Reinigungszeit als beispielsweise die TiBrush-Gruppe der aktuellen Untersuchung. Das bereits angesprochene Problem der weniger ausgereiften Plaque, die sich leichter und schneller entfernen lässt, hat hier ebenfalls Einfluss auf die Ergebnisse. Weiterhin muss bei der Interpretation dieser Ergebnisse darauf verwiesen werden, dass Schwarz et al. Probekörper mit einer Oberfläche von $0,7\text{mm}^2$ verwendeten, währenddessen in der aktuellen Versuchsreihe eine circa 2,5-fach größere Oberfläche von $1,77\text{mm}^2$ bearbeitet wurde. Gerade unter diesem Gesichtspunkt ist im Vergleich der Gruppen der Wert, der für die Bearbeitung mit der TiBrush bestimmt wurde, als sehr gut einzustufen. Eine weitere Studie untersuchte an vergleichbaren Plättchen, die ebenfalls eine SLA-Oberfläche aufwiesen, einen Durchmesser von 15mm hatten und in einem identischen

Schienenendesign für ebenfalls 48 Stunden getragen wurden, die Reinigungseffektivität der Pulverstrahlbehandlung mit zwei unterschiedlichen Abständen sowie zwei unterschiedlichen Winkeln des Gerätes zur Probekörperoberfläche sowie vier verschiedenen Pulverzusätzen (45). Nach einmaliger Behandlung wurde innerhalb der Gruppen eine mittlere RPA festgestellt, die von $0,0 \pm 0,0\%$ bis zu $5,7 \pm 5,7\%$ reichte. Innerhalb dieser Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede detektiert werden. Die Ergebnisse der einzelnen Gruppen untereinander können demzufolge als vergleichbar interpretiert werden. Bei dieser Studie wurde nicht die Zeit als Parameter erhoben, sondern der Reinigungsvorgang genau definiert, indem pro zu reinigendem Plättchen jeweils vier Kreise vom Zentrum des Probekörpers nach außen in einer Zeit von 20 Sekunden abgestrahlt wurden. Diesem einen Reinigungsvorgang folgte nach zwischenzeitlicher RPA-Bestimmung ein zweiter, der auf identische Art und Weise durchgeführt wurde. Nach diesem zweiten Durchgang konnten in sämtlichen Testgruppen exakt übereinstimmende RPA-Werte von $0,0 \pm 0,0\%$ ermittelt werden. Da diese Studie und die aktuell vorliegende Versuchsreihe in Bezug auf Probekörper und Biofilmreife übereinstimmen, lässt sich schlussfolgern, dass selbst der schlechteste Wert der getesteten Pulverstrahlgruppen mit 5,7% geringer ist als die gemessenen 8,57% der TiBrush-Gruppe. Diese Ergebnisse in Verbindung mit der kurzen Reinigungszeit von 20 Sekunden sowie die komplett gesäuberte Oberfläche aller Plättchen nach lediglich 40 Sekunden, lassen die Oberflächenbehandlung mittels Pulverstrahlgeräten als effektiver erscheinen. Eine andere Versuchsreihe, die im Aufbau der aktuellen Untersuchung sehr ähnlich ist, untersuchte die Effektivität von Pulverstrahlgeräten. In diesen Versuchen wurde ebenfalls ein Schienenendesign verwendet, das dem der aktuellen Studie fast exakt entspricht, außer dass hier lediglich zwei Versuchsplättchen zum Gaumen hin orientiert eingesetzt wurden. Es wurden allerdings ebenfalls Plättchen im Durchmesser von 15mm und einer Dicke von einem Millimeter, welche eine SLA-Oberfläche aufwiesen, verwendet. Die Tragezeit der Schienen wurde ebenfalls auf 48 Stunden festgelegt, was eine vergleichbare Reife des Biofilms zur Folge haben sollte. In diesen Untersuchungen wurden vier verschiedene Pulverzusätze getestet, die bei einem Winkel von 90 Grad appliziert wurden. Die Reinigungszeit wurde in

diesem Versuch auf 30 Sekunden festgelegt. Eine weitere Testgruppe wurde für 30 Sekunden mit einem 35-prozentigen Phosphorsäuregel benetzt, welches im Anschluss mit steriler Kochsalzlösung abgespült wurde. Eine Kontrollgruppe wurde für 30 Sekunden unter den gleichen Bedingungen wie die Pulverstrahlgruppen, allerdings ohne Pulverzusatz, behandelt. Diese Gruppe wurde mit Wasser und Luftdruck gereinigt. Im Vergleich dieser Gruppen konnten zwischen den einzelnen Pulverzusätzen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Leider sind in dieser Studie keine exakten mittleren RPA angegeben, sodass eine zahlenmäßige Diskussion der Messwerte nicht erfolgen kann. Allerdings beschrieben Tastepe et al., dass die sämtlichen getesteten Pulverzusätze eine signifikant geringere RPA nach der Behandlung aufwiesen als die Behandlung mit Phosphorsäuregel und dass nach 30 Sekunden eine fast vollständige Entfernung der Biofilme, dementsprechend eine vergleichbare Reinigungseffektivität wie bei den Gruppen von Schwarz et al., nachgewiesen werden konnte. Dies bekräftigt die Annahme, dass der Einsatz von Pulverstrahlgeräten eine effektive Maßnahme zur Biofilmbeseitigung auf kontaminierten Implantatoberflächen sein kann.

Eine hohe Reinigungseffektivität ist allerdings nicht die einzige wichtige Eigenschaft, die ein Instrument oder eine Behandlungsmethode zur Biofilmentfernung von kontaminierten Implantatoberflächen haben sollte. Die oftmals modifizierten, angerauten Implantatoberflächen, die eine bessere Osseointegration zur Folge haben sollen, sollten wunschgemäß nicht durch eine mechanische Reinigungsmethode verändert oder sogar zerstört werden (62). In vorhergehenden Studien konnte gezeigt werden, dass Oberflächenbehandlungen mit Metallinstrumenten auf Titanoberflächen Artefakte hinterlassen, diese verändern und raue Areale hinterlassen (63,64, 65). Diese daraus entstehenden Bereiche können womöglich eine Umgebung schaffen, die einer besseren initialen Anhaftung weiterer neuer Biofilmformationen und als Retentionsnischen dienen können (65). Die aktuellen Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe bestätigen diese Voruntersuchungen, denn auch hier war nach Benutzung der Stahlküretten, trotz eines geringen Anpressdruckes von circa 0,25N, in jedem Fall der untersuchten Plättchen eine Abflachung und Einebnung der typischen spitzen

Erhebungen der SLA-Oberfläche zu beobachten. In manchen Bereichen, gerade im Randbereich, der noch nachzuweisenden residualen Plaque, war eine teilweise vollständige Zerstörung der SLA-Oberfläche festzustellen. Die Ergebnisse der aktuellen Studie untermauern daher die Empfehlung, lediglich Instrumente zur mechanischen Implantatoberflächenreinigung zu benutzen, die eine geringere Härte als Titan aufweisen (66,67). Die Untersuchung von Mann et al. konnte ebenfalls deutliche Oberflächenartefakte nach dem Einsatz metallischer Ultraschallspitzen nachweisen. Die Verwendung modifizierter, mittels Plastiküberzug bedeckter, metallischer Ultraschallspitzen hatte ebenfalls erkennbare Oberflächenveränderungen in Form dezenter Impressionen zur Folge. Diese waren zwar nicht so ausgeprägt, wie bei den Metallspitzen, allerdings noch deutlich erkennbar. Es wurde beschrieben, dass die Plastikspitzen im Gegensatz zu den Metallspitzen keinen Materialabtrag nach sich zogen und somit keine künstlichen Defekte nach sich zögen und eher einen polierenden Effekt hätten. Da diese Untersuchungen an maschinieren Titanabutments durchgeführt wurden, ist zu erwarten, dass dieser Effekt auf angerauten, modifizierten Oberflächen, wie der SLA-Oberfläche, einen noch größeren Effekt haben wird. Weiterhin wurden in der Umgebung der Oberflächenveränderungen, die durch die Plastikspitzen verursacht wurden, Materialrückstände nachgewiesen, die aufgrund des Abriebes am Arbeitsende der Plastikspitzen entstehen. Diese Überstände sind aufgrund des geschlossenen Vorgehens bei der nicht chirurgischen Therapie, die hier im Mittelpunkt der Diskussion steht, und der Enge der periimplantären Taschen sehr schwer zu entfernen. Verbleibende Rückstände könnten Auslöser von minimalen allergischen Reaktionen oder Fremdkörperreaktionen sein, die womöglich ein noch progressiveres Voranschreiten der Erkrankung unterstützen. Vergleichbare Abrasionen oder Rückstände, die von der TiBrush abgelöst worden sein könnten, konnten in keinem der rasterelektronenmikroskopisch untersuchten Probekörper festgestellt werden. Ebenso zeigte keines der untersuchten Titanplättchen Anzeichen jeglicher Oberflächenalterationen nach Benutzung der TiBrush. Die Arbeitshypothese 3 konnte somit durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie widerlegt werden. Die Einflüsse von Pulverstrahlgeräten auf strukturierte Titanoberflächen wurden ebenfalls durch verschiedene Studien untersucht. In einigen Versuchsreihen

konnte eine Oberflächenveränderung in Form von rasterelektronenmikroskopisch deutlich nachweisbaren Abflachungen und Einebnungen der spitzen SLA-Erhebungen nachgewiesen werden. Diese traten hauptsächlich nach Bestrahlung mit Bicarbonatpulver auf (45,47). Bei Schwarz et al. konnten diese Veränderungen erst nach der zweimaligen Anwendung festgestellt werden, also nach einer Behandlungszeit von 40 Sekunden pro Plättchen (1,77m²). Im Rahmen dieser Untersuchungen konnten auch nach zweimaliger Applikation keine Oberflächenveränderungen nach der Benutzung von Glycinpulver festgestellt werden. Durch andere vorgehende Untersuchungen konnte bereits belegt werden, dass Glycinpulver sich weniger abrasiv verhält, als Bicarbonatpulver (68), was an der vermuteten geringeren Härte der Glycinpulverbestandteile im Vergleich zu den Bicarbonatteilchen liegen könnte. Eine weitere Versuchsreihe konnte Oberflächenveränderungen nach der Benutzung aller untersuchten Pulverzusätze bereits nach 30 Sekunden Bearbeitungszeit feststellen (59). Die geringsten beobachteten Veränderungen traten hierbei in der Gruppe, in der Titandioxid als Pulverzusatz verwendet wurde, auf. Etwas stärker sichtbare Abrundungen der SLA-Oberfläche wurden nach der Verwendung von Glycinpulver beschrieben. Sehr deutlich sichtbare und verbreitetere Abrundungserscheinungen wurden in den Gruppen nach der Applikation von gesintertem Hydroxylapatit und nicht gesintertem Tricalciumphosphat beobachtet. Bei dem Einsatz von Pulverstrahlgeräten muss weiterhin beachtet werden, dass die Gefahr einer Emphysembildung nach der Behandlung, insbesondere bei axialer Strahlrichtung, gegeben ist (69, 70). Die Einflüsse der Benutzung von Lasersystemen auf Titanoberflächen wurden ebenfalls untersucht. Hierbei konnten einige Versuchsreihen aufzeigen, dass der Einsatz eines Neodym: Yttrium, Aluminium, Garnet-Lasers (Nd:YAG) bereits bei niedrigen Leistungseinstellungen zu Veränderungen in Form von Einschmelzungen auf der Titanoberfläche führen kann und wurde daher nicht zur Verwendung an Titanimplantaten empfohlen (47, 71, 72). Eine andere Studie steht diesen Ergebnissen gegenüber. Hier wurde anhand der erhobenen Ergebnisse proklamiert, dass der Nd:YAG Laser ein effektives Mittel zur Implantatoberflächendekontamination sei, ohne dass Oberflächenartefakte, bei entsprechender Einstellung der Laserparameter, beobachtet werden konnten.

In dieser Studie wurde allerdings das Biofilmmodell mittels einer Übernachtbesiedelung mit lediglich jeweils einem Bakterienstamm, einmal *Escherichia coli* und einmal *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, durchgeführt. Diese besiedelten Oberflächen entsprechen nicht dem Biofilmmodell, das in der aktuellen Studie untersucht wurde. Da es sich nicht um einen natürlichen Biofilm handelt und lediglich 12 Stunden inkubiert wurde, ist anzunehmen, dass sich diese einzelnen Bakterienstämme leichter von der Oberfläche entfernen lassen sollten, was sicherlich eine effektive Reinigung bei niedrigen Einstellungen bezüglich der Laserleistung vortäuschen kann. Zusätzlich wurden die Implantatoberflächen in diesen Untersuchungen durch einen Luftstrom während der Behandlung gekühlt, was sich unter klinischen Bedingungen aufgrund der räumlichen Enge der periimplantären Situation als schwierig gestalten sollte. Nichtsdestotrotz wurden auch in dieser Versuchsreihe Oberflächenartefakte ab einer eingestellten Pulsenergie von 60 Millijoule festgestellt. Bei der Benutzung eines Nd:YAG-Lasers bleibt demzufolge ein hohes Risiko bestehen, die Oberfläche von Titanimplantaten zu verändern. Therapien, die mittels anderer Lasersysteme, wie dem Dioden-, CO₂- oder Er:YAG-Laser durchgeführt werden, werden eine schonende Oberflächenbehandlung von Titan zugesprochen (47,71).

Die Testung der behandelten Oberflächen auf Biokompatibilität nach den Behandlungen wurde mittels Zellkulturversuchen durchgeführt und an das Design vorhergehender Studien angelehnt. Die untersuchten SLA-Oberflächen sind für den intraossären Bereich bestimmt und sollten im günstigsten Falle nach einer erfolgreichen Periimplantitistherapie einer Reossifikation zugeführt werden. Daher sollten osteoblastenähnliche Zellen auf diesen Oberflächen angesiedelt und deren Wachstumsverhalten untersucht werden. SAOS-2-Zellen sind für ihre osteoblastenähnlichen Eigenschaften, insbesondere für ihre vergleichbare Affinität zu Titanoberflächen im Vergleich mit humanen Osteoblasten, bekannt und wurden aufgrund dessen für diese Studie ausgewählt (73). Die Zellzahl wurde anhand der ATP-Bestimmung mittels eines Lumineszenzassays durchgeführt. Dabei werden vorhandene Zellen lysiert und das intrazellulär gespeicherte ATP wird frei und messbar. Dieses freie ATP ist direkt proportional zur Anzahl vorher vitaler Zellen (74). Schwarz et al.

untersuchten die Biokompatibilität pulvergestrahlter und vorher Biofilm-besiedelter Titanoberflächen. In diesen Untersuchungen waren die Zellviabilitäten der verwendeten SAOS-2-Zellen in jeder der behandelten Plättchengruppen nach sieben Tagen signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe, in welcher native SLA-Probekörper verwendet wurden. In diesen Versuchsreihen konnte mit keinem der verwendeten Bikarbonat- oder Glycinpulverzusätzen nach der Behandlung und nachgewiesenen Reinigung eine biokompatible Oberfläche nachgewiesen werden (45). Schwarz et al. untersuchten ebenfalls die Biokompatibilität von Biofilm-besiedelten Titanoberflächen nach Dekontamination mittels Plastikküretten, Ultraschallgerät und Er:YAG-Laser. In diesen Untersuchungen wurden ebenfalls SAOS-2-Zellen auf den Probekörpern getestet, allerdings die Zellviabilität nach drei Tagen Besiedelungszeit bestimmt. Hierbei wurde nach der Ultraschalldekontamination die höchste Viabilität unter den Testgruppen festgestellt, gefolgt von der Er:YAG-Laserbehandlung und jener mittels Plastikküretten. Allerdings war die Zellviabilität in jeder der Testgruppen deutlich geringer als in der Kontrollgruppe, welche aus nativen, nicht Biofilm-besiedelten Plättchen bestand.

Auch in der aktuellen Studie konnte nach keiner der beiden gewählten Behandlungsmethoden eine zellfreundliche, also biokompatible Oberfläche nachgewiesen werden. Hier wurde ebenso in den Kontrollgruppen eine signifikant höhere Zellviabilität nachgewiesen als in den Testgruppen. Somit konnte Arbeitshypothese 4 widerlegt werden: durch die alleinige Anwendung der TiBrush ist keine Wiederherstellung einer biokompatiblen Titanoberfläche möglich. Interessant war allerdings in der aktuellen Studie, dass die Zellkontrolle von Tag drei auf Tag sechs deutlich anstieg, die Testgruppe mit der TiBrush ebenfalls von Tag drei auf Tag sechs anstieg, währenddessen innerhalb der Stahlküretten-Gruppe die Zellviabilität von Tag drei auf Tag sechs abnahm. Dies könnte darin begründet sein, dass der den Plättchen anhaftende Restbiofilmanteil vor dem Zellkulturversuch autoklaviert wurde. Somit könnte er seinen zytotoxischen Effekt verloren haben und eventuell durch die Oberflächenproteine auf dem inaktivierten Biofilm eine initiale Zellanheftung unterstützen können.

Einen weiteren interessanten Aspekt in Bezug auf die Effektivität der verschiedenen einsetzbaren Optionen zur Oberflächendekontamination liefern die Untersuchungen von Sahrman et al.(75). In diesen Untersuchungen wurde versucht, typische klinische Defektsituationen auf ein *in vitro* Modell zu übertragen, um die Reinigungssituation, die unter klinischen Bedingungen vorherrscht, bestmöglich zu imitieren und danach die Implantate herausdrehen zu können und aus sämtlichen Blickwinkeln untersuchen zu können. Für diese Versuchsreihe wurden Standardimplantate verwendet, die natürlich auch die Implantatwindungen aufweisen. Diese stellen bei der Reinigung eine zusätzliche Schwierigkeit dar, da die Gewindegänge recht eng sind und es somit relativ schwierig wird, die tieferliegenden Bereiche zwischen zwei Gewindegängen zu erreichen und somit effektiv zu reinigen. Dies wird insbesondere durch Situationen verstärkt, in denen nicht oder nur schwierig abnehmbare prothetische Versorgungen auf den Implantaten befestigt sind, da hierbei der meist recht schmale Zugang zu den Implantatoberflächen von koronal weiter eingeengt wird. Daher ist ein Zugang zum Implantat lediglich in einem sehr spitzen Winkel möglich und der Bewegungsspielraum für beispielsweise Küretten oder Ultraschallscaler ist zusätzlich sehr eingeschränkt. Genau diese Problematik versuchten Sahrman et al. zu untersuchen und schraubten die Implantate in Kunststoff ein, woraus sie um die Implantate herum verschiedene Defektsituationen modellieren konnten, welche dann in verschiedenen Winkeln zugänglich waren. Es ist kaum möglich, ein handelsübliches dentales Implantat *in toto* intraoral zu fixieren und dieses somit einer natürlichen Biofilmbesiedelung auszusetzen. Eine zirkuläre, homogene Biofilmbedeckung zu erreichen, ohne den Probanden erhöhten Gefahren beispielsweise in Form von Aspiration der Probekörper auszusetzen, erscheint fast unmöglich. Dieser Problematik begegnete diese Arbeitsgruppe, indem völlig auf ein Biofilmmodell verzichtet wurde. Der Biofilm wurde durch eine Farbbeschichtung ersetzt. Dazu wurden die sterilen Implantate in Tinte getaucht, die dann die Plaque darstellen sollte. Die Idee war, dass der Reinigungsmethode zugängliche und demzufolge bearbeitete Strukturen eine gräuliche Titanoberfläche widerspiegeln, währenddessen unbearbeitete Bereiche eingefärbt bleiben sollten. Diese Versuche konnten eindrucksvoll veranschaulichen, dass die Gewindegänge von koronal betrachtet fast

vollständig gereinigt waren, allerdings waren von apikal betrachtet, also von der klinischen Defektbasis aus, noch deutliche Farbrückstände erkennbar. Diese Ergebnisse basieren auf einer Oberflächenbehandlung mittels Pulverstrahlgerät und zeigten recht deutlich die Limitationen, die trotz bewiesener hoher Reinigungseffizienz, im klinischen Alltag gegenüberstehen. Gleiche Situation lässt sich auf Lasergeräte übertragen, da auch diese lediglich in dem Bereich aktiv sind, der vom Laserlicht beschienen wird. Es ist zu erwarten, dass die Unterseite der Implantatgewindgänge vom Laserlicht kaum bis überhaupt nicht erreicht werden und dort demzufolge auch keine effektive Dekontamination der Oberflächen erfolgen kann. Weiterhin ist es denkbar, dass koronal gelegene Gewindgänge Schatten auf apikalere Gewindgänge werfen und diese dadurch selbst auf der oberliegenden Seite nicht effizient genug gereinigt werden. Diese Effekte werden sich umso stärker auswirken, je schmaler die zu behandelnde Defektkonfiguration ist. Dies bestätigten auch diese Untersuchungen, in denen festgestellt wurde, dass die meisten noch eingefärbten Bereiche in den schmalen Defekten detektiert wurden. Es ist vorstellbar, dass ein schmales, rotierendes Instrument, wie die TiBrush, insofern es bis zum apikalsten Defektpunkt eingeführt werden kann, diesbezüglich Vorteile haben sollte, da die Borsten aufgrund ihrer Länge bis zum tiefsten Punkt zwischen zwei Gewindgängen reichen. Demzufolge sollte die TiBrush in dem Bereich, in dem sie parallel der Implantatoberfläche anliegend eingeführt wird, gleichmäßig und effektiv reinigen und auch gegenüber Küretten oder Ultraschallscalern Vorteile haben. Diesbezüglich sind allerdings weitere Untersuchungen notwendig, um diese Hypothese zu entkräften beziehungsweise zu belegen.

4.1 Fazit:

Durch die aktuellen Untersuchungen konnte zum wiederholten Male die Tauglichkeit und Nützlichkeit dieses Versuchsmodells für die Untersuchung von natürlich entstandenen Biofilmen sowie deren Bildungsgeschwindigkeiten bewiesen werden. Letzteres könnte gerade bei der Testung von neuartigen, modifizierten Implantatoberflächen von Nutzen sein, wenn man die Affinität von Bakterien zu diesen Oberflächen und somit Einflüsse auf die initiale Biofilmbildungsgeschwindigkeit untersuchen möchte. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, auch wenn dieses Modell, wie bereits diskutiert, eine supragingivale Plaque liefert, die sicherlich einfacher zu entfernen ist, als eine subgingivale, welche, wie bereits beschrieben, aufgrund ihrer Zusammensetzung eine höhere Härte aufweist, dass der gewählte Versuchsaufbau gut für die Untersuchung von Reinigungs- und Dekontaminationsmethoden geeignet ist. Dieses Modell liefert nicht nur tendenzielle Ergebnisse, sondern kann signifikante Unterschiede in der Effizienz der verschiedenen Methoden aufzeigen.

Bezüglich der Reinigungseffektivität konnten für die TiBrush sehr gute Resultate nachgewiesen werden. Diese reißen sich im Vergleich mit anderen, ähnlich aufgebauten Untersuchungsreihen, im vordersten Bereich ein. Dabei war die Effektivität der TiBrush deutlich höher anzusiedeln als beispielsweise jene von Plastik- oder Stahlküretten oder jene von Ultraschallsystemen. Vergleichbare oder geringfügig bessere Ergebnisse wurden lediglich noch von Pulverstrahlgeräten sowie beim Einsatz von Lasersystemen erzielt. Diese wurden allerdings unter *in vitro* Bedingungen erreicht, die eine optimale Zugänglichkeit zu jedem Bereich der Fläche ermöglichten. In der klinischen Situation ist dieser Umstand aufgrund der meist tiefen und engen periimplantären Defekte nicht möglich, sodass obere Gewindegänge Lichtschatten bei der Benutzung von Lasersystem werfen könnten und Strahlschatten bei dem Einsatz von Pulverstrahlgeräten, welche die komplette Reinigung weiter apikal liegender Gewindegänge erreichen, in Frage stellen könnten. Sicher belegt erscheint eine uneffektivere Reinigung der Unterseite

der Implantatgewindegänge mit beiden Methoden. Diesbezüglich scheint die TiBrush im Vorteil zu sein, da sie, als relativ schmales Instrument, recht einfach parallel zur Implantatachse in periimplantäre Defekte eingeführt werden kann und dort durch ihre rotierend, oszillierende Arbeitsweise dann an jedem Punkt seitlich bis in die tieferen Regionen der Gewindegänge gleichmäßig arbeiten kann. Aus diesem Sachverhalt der einfachen und unkomplizierten Handhabung könnte die Benutzung der TiBrush klinisch sogar einen weiteren Vorteil ziehen und sich von den restlichen Methoden absetzen. Dies muss allerdings durch weitere Untersuchungen noch evaluiert werden.

Nach der Verwendung der TiBrush konnten keine Oberflächenartefakte nachgewiesen werden in Form von Substanzdefekten, wie sie bei der Benutzung von Stahlküretten oder Metallultraschallscalern entstehen, wie Abflachungen und Einebnungen, die nach der Benutzung von Pulverstrahlgeräten nachgewiesen werden konnten oder polierende Effekte, wie sie die Bearbeitung mittels Plastik-beschichteter Ultraschallscaler nach sich zieht. Ebenso konnten keine nachweisbaren Rückstände, die durch Abrieb entstanden sein könnten, oder abgerissene, einzelne Titanborsten beobachtet werden. Diesbezüglich erscheint die TiBrush nach diesen Untersuchungen als vorteilhaft gegenüber Metallinstrumenten, die zur mechanischen Reinigung verwendet werden können, Plastik-beschichteten Arbeitsenden von Ultraschallgeräten, welche deutlich nachweisbaren Abrieb hinterlassen, der eine ungestörte Wundheilung behindern kann, sowie Pulverstrahlgeräten. Ein weiterer, nicht zu unterschätzender Nachteil des Einsatzes von Pulverstrahlgeräten ist die erhöhte Gefahr der Emphysembildung. Die TiBrush ist bezüglich der Oberflächenbehandlung ähnlich schonend einzuschätzen wie ein korrekt eingesetztes und eingestelltes Lasersystem.

Eine Wiederherstellung der Biokompatibilität der mittels TiBrush behandelten Titanoberflächen konnte anhand der ermittelten Ergebnisse nicht erreicht werden. Die Eigenschaften der behandelten Oberfläche in Bezug auf Zellfreundlichkeit waren deutlich schlechter als jene der nativen, nicht Biofilm-besiedelten und demzufolge unbehandelten SLA-Oberfläche.

Ein weiterer Vorteil der TiBrush im klinischen Alltag besteht in der unkomplizierten und einfachen Anwendungsweise. So müssen für den Einsatz der TiBrush keine zusätzlichen Geräte wie Pulverstrahlgeräte oder teure Lasersysteme neu angeschafft und unterhalten werden. Die TiBrush wird in ein rotierend, oszillierend arbeitendes Winkelstück eingespannt und ist sofort einsatzbereit. Somit sollte die TiBrush auch zahnärztlichen Praxen, die sich nicht auf Periimplantitistherapie oder Laserzahnmedizin spezialisiert haben, einen Zugang zu einer effektiven Implantatoberflächenreinigung ermöglichen.

5. Literatur:

¹ Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 286-291

² Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus report of the sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 2008; 35 (Suppl.8): 282-285

³ Leonhardt A, Dahlen G, Renvert S. Five-year clinical, microbiological and radiological outcome following treatment of peri-implantitis in man. *J Periodontol* 2003; 74: 1415-1422

⁴ Koeck B, Wagner W. *Implantologie*. München: Elsevier GmbH 2004

⁵ Sanderink RBA, Bernhardt H, Knoke M, Meyer J, Weber C, Weiger R. *Curriculum – Orale Mikrobiologie und Immunologie*. Berlin: Quintessenz, 2004

⁶ Scheie AA. Mechanisms of dental plaque formation. *Adv Dent Res* 1994; 8: 246-253

⁷ Edgerton M, Lo SE, Scannapieco FA. Experimental salivary peillicels formed on titanium surfaces mediate adhesion of streptococci. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996; 11: 443-449

⁸ Steinberg D, Klinger A, Kohavi D, Sela MN. Adsorption of human salivary proteins to titanium powder. I. Adsorption of human salivary albumin. *Biomaterials* 1995; 16: 1339-1343

⁹ Leonhardt A, Renvert S, Dahlen G. Microbial findings at failing implants. *Clin Oral Implants Res* 1999; 10: 339-345

¹⁰ Koyanagi T, Sakamoto M, Takeuchi Y, Ohkuma M, Izumi Y. Analysis of microbiota associated with peri-implantitis using 16s rrna gene clone library. *J Oral Microbiology* 2010; 2: 1-7

-
- ¹¹ Løe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965; 36: 177-187
- ¹² Pontoriero R, Tonelli MP, Carnevale G, Mombelli A, Nyman SR, Lang NP. Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Impl Res* 1994; 5: 254-259
- ¹³ Roos-Jansaker A-M, Renvert H, Lindahl C, Renvert S. Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part III: factors associated with peri-implant lesions. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 296-301
- ¹⁴ Quirynen M, Papaioannou W, Van Steenberghe D. Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. *J Periodontol* 1996; 67: 986-993
- ¹⁵ Sumida S, Ishihara K, Kishi M, Okuda K. Transmission of periodontal disease-associated bacteria from teeth to osseointegrated implant regions. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17:696-702
- ¹⁶ Karoussis IK, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJ, Brägger U, Hämmerle CH, Lang NP. Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10-year prospective cohort study of the ITI Dental Implant System. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14: 329-339
- ¹⁷ Levin L, Schwartz-Arad D. The effect of cigarette smoking on dental implants and related surgery. *Implant Dent* 2005; 14: 357-361
- ¹⁸ Kan JY, Rungcharassaeng K, Lozada JL, Goodrace CJ. Effects of smoking on implant success in grafted maxillary sinuses. *J. Prosthet Dent* 1999; 82: 307-311
- ¹⁹ Lambert PM, Morris HF, Ochi S. The influence of smoking on 3-year clinical success of osseointegrated dental implants. *Ann Periodontol* 2000; 5: 79-89

-
- ²⁰ Warrer K, Buser D, Lang NP, Karring T. Plaque-induced peri-implantitis in the presence or absence of keratinized mucosa. An experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res* 1995; 6: 131-138
- ²¹ Tonetti MS, Schmid J. Pathogenesis of implant failures. *Periodontol 2000* 1994; 4: 127-138
- ²² Heitz-Mayfield LJ. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32 (Suppl. 6): 196-209
- ²³ Ferreira SD, M Silva GL, Cortelli JR, Costa JE, Costa FO. Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 929-935
- ²⁴ Serino G, Strom C. Peri-implantitis in partially edentulous patients: association with inadequate plaque control. *Clin Oral Implants Res* 2009; 20: 169-174
- ²⁵ Schwarz F, Becker J. Periimplantäre Entzündungen. Berlin: Quintessence Verlags-GmbH 2007
- ²⁶ Duarte PM, de Mendonca AC, Maximo MB, Santos VR, Bastos MF, Nociti Junior FH. Differential cytokine expressions affect the severity of peri-implant disease. *Clin Oral Implants Res* 2009;20: 514-520
- ²⁷ Javed F, Al-Hezaimi K, Salameh Z, Almas K, Romanos GE. Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine* 2011;53:8-12.
- ²⁸ Smith DE, Zarb GA. Criteria for success of osseointegrated endosseous implants. *J Prosthet Dent* 1989; 62: 567-572.

-
- ²⁹ Lang NP, Berglundh T, Heitz-Mayfield LJ, Pjetursson BE, Salvi GE, Sanz M. Consensus statements and recommended clinical procedures regarding implant survival and complications. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2004;19(Suppl):150-4.
- ³⁰ Fienitz T, Schwarz F, Ritter L, Dreiseidler T, Becker J, Rothamel D. Accuracy of cone beam computed tomography in assessing peri-implant bone defect regeneration: a histologically controlled study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2012; 23 (7): 882-887
- ³¹ Wang D, Künzel A, Golubovic V, Mihatovic I, John G, Chen Z, Becker J, Schwarz F. Accuracy of peri-implant bone thickness and validity of assessing bone augmentation material using cone beam computed tomography. *Clin Oral Invest* 2012; E-pub ahead of print
- ³² Algraft H, Borumandi F, Cascarini L. Peri-implantitis. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 50 (8): 689-94
- ³³ Silness J, Loe H. Periodontal Disease in Pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-135
- ³⁴ Mombelli A, Van Oosten MA, Schurch E Jr, Land NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol* 1987; 2: 145-151
- ³⁵ Loe H, Silness J. Periodontal Disease in pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533-551
- ³⁶ Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975; 25: 229-235
- ³⁷ Fransson C, Wennstrom J, Berglundh T. Clinical characteristics at implants with a history of progressive bone loss. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19: 142-147

-
- ³⁸ Schwarz F, Herten M, Sager M, Bieling K, Sculean A, Becker J. Comparison of naturally occurring and ligamenture induced peri-implantitis bone defects in humans and dogs. Clin Oral Implants Res 2007; 18 (2): 161-170
- ³⁹ Spiekermann H. Implantologie. Stuttgart: Thieme Verlag 1984
- ⁴⁰ Agerbaek MR, Lang NP, Persson GR. Comparisons of bacterial patterns present at implant and tooth sites in subjects on supportive periodontal therapy. I. Impact of clinical variables, gender and smoking. Clin Oral Implants Res 2006; 17: 18-24
- ⁴¹ Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of pristine peri-implant pockets. Clin Oral Implants Res 2006; 17: 25-37
- ⁴² Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. Periodontol 2000 1998; 17: 63-76
- ⁴³ Matarasso S, Quaremba G, Coraggio F, Vaia E, Cafiero C, Lang NP. Maintenance of implants: an *in vitro* study of titanium implant surface modifications subsequent to the application of different prophylaxis procedures. Clin Oral Implants Res 1996; 7: 64-72
- ⁴⁴ Schwarz F, Sculean A, Romanos G, Herten M, Horn N, Scherbaum W, Becker J. Influence of different treatment approaches on the removal of early plaque biofilms and the viability of SAOS2 osteoblasts grown on titanium implants. Clin Oral Invest 2005; 9: 111-117
- ⁴⁵ Schwarz F, Ferrari D, Popovski K, Hartig B, Becker J. Influence of Different Air-Abrasive Powders on Cell Viability at Biologically Contaminated Titanium Dental Implants Surfaces. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2009; 88(1): 83-91
- ⁴⁶ Schwarz F, Rothamel D, Becker J. Influence of an Er:YAG laser on the surface structure of titanium implants. Schweiz Monatsschr Zahnmed 2003; 21: 7-17

-
- ⁴⁷ Kreisler M, Gotz H, Duschner H. Effect of Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG, CO₂, and GaAlAs laser irradiation on surface properties of endosseous dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17: 202-211
- ⁴⁸ Heitz Mayfield LJ, Lang NP. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. *Periodontol* 2000. 2010; 53: 167-181
- ⁴⁹ Renvert S, Roos-Jansaker AM, Claffey N. Non surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review. *J Clin Periodontol* 2008; 35:305-315
- ⁵⁰ Eposito M, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. The efficacy of interventions to treat peri-implantitis: a cochrane systematic review of randomized controlled clinical trials. *Eur J Oral Implantol* 2008; 1: 111-125
- ⁵¹ Renvert S, Lessem J, Dahlen G, Renvert H, Lindahl C. Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri-implantitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol* 2008; 79: 836-844
- ⁵² Romeo E, Ghisolfi M, Murgolo N, Chiapasco M, Lops D, Vogel G. Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part I: clinical outcome. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16: 9-18
- ⁵³ Schwarz F, John G, Mainusch S, Sahm N, Becker J. Combined surgical therapy of peri-implantitis evaluating two methods of surface debridement and decontamination. A two-year clinical follow up report. *J Clin Periodontol* 2012; 39: 789-797
- ⁵⁴ Siegrist BE, Brex MC, Gusberty FA, Joss A Lang NP. In vivo early plaque formation on different supporting substances. A scanning electron microscopic and bacteriological study. *J Clin Oral Implants Res* 1991; 2: 38-46
- ⁵⁵ Schwarz F, Papanicolau P, Rothamel D, Beck B, Hertten M, Becker J. Influence of plaque biofilm removal on reestablishment of the biocompatibility of contaminated titanium surfaces. *J Biomed Mat Res Part A* 2006; 77: 437-444

-
- ⁵⁶ Giannini R, Vassali M, Chellini F, Polidori L, Dei R, Gianelli M. Neodymium: yttrium aluminium garnet laser irradiation with low pulse energy: a potential toll for the treatment of peri-implant disease. *Clin Oral Impl Res* 2006; 17: 638-643
- ⁵⁷ Gosau M, Hahnel S, Schwarz F, Gerlach T, Reichert TE, Bürgers R. Effect of six different peri-implantitis disinfection methods on in vivo human oral biofilm. *Clin Oral Implants Res* 2010; 21: 866-872
- ⁵⁸ Rimondini L, Fare S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F, Carrassi A. The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. *J Periodontol* 1997; 68:556-562.
- ⁵⁹ Tastepe CS, Liu Y, Visscher CM, Wismeijer D. Cleaning and modification of intraorally contaminated titanium discs with calcium phosphate powder abrasive treatment. *Clin Oral Impl Res* 2012; 00: 1-9
- ⁶⁰ Schwarz F, Sculean A, Wieland M, Horn N, Nuesry E, Bube C, Becker J. Effects of hydrophilicity and microtopography of titanium implant surfaces on initial supragingival plaque biofilm formation. *Mund Kiefer GesichtsChir* 2007; 11: 333-338
- ⁶¹ Schroeder HE. Crystal morphology and gross structures of mineralizing plaque and of calculus. *Helvetia Odontologica Acta* 1965; 35:73-86.
- ⁶² Mann M, Parmar D, Walsmley AD, Lea SD. Effect of plastic covered ultrasonic scalers on titanium implant surfaces. *Clin Oral Impl Res* 2012; 23: 76-82
- ⁶³ Meschenmoser A, d'Hoedt B, Meyle J, ElssnerG, Korn D, Hämmerle H, Schulte W. Effects of various hygiene procedures on the surface characteristics of titanium abutments. *J Periodontol* 1996; 67: 229-235

-
- ⁶⁴ Mengel R, Meer C Flores-de-Jacoby L. The treatment of uncoated and titanium nitride coated abutments with different instruments. *Int J Oral Max Impl* 2004; 19: 232-238
- ⁶⁵ Quirynen M, van der Mei HC, Bollen CML, Schotte A, Marechal M, Doornbusch GI, Naert I, Busscher HJ, van Steenberghe D. An *in vivo* study on the influence of the surface roughness of implants in microbiology of supra- and subgingival plaque. *J Dent Res* 1993; 72: 1304-1309
- ⁶⁶ Rühling A, Kocher T, Kreuzsch J, Plagmann HC. Treatment of subgingival implant surfaces with teflon-coated sonic and ultrasonic scaler tips and various implant curettes. An *in vitro* study. *Clin Oral Impl Res* 1994; 5: 19-29
- ⁶⁷ Sato S, Kishida M Ito K. The comparative effect of ultrasonic scalers on titanium surfaces: an *in vitro* study. *J Periodontol* 2004; 75: 1269-1273
- ⁶⁸ Petersilka GJ, Bell M, Haberlein I, Mehl A, Hickel R, Flemming TF. *In vitro* evaluation of novel low abrasive air polishing powders. *J Clin Periondotol* 2003; 30: 9-13
- ⁶⁹ Van de Velde E, Thielens P, Schauteet H, Vanclooster R. Subcutaneous emphysema of the oral floor during cleaning of a bridge fixed on an IMZ implant. *Case Rep Rev Belge Med Dent* 1991; 46 (3): 64-71
- ⁷⁰ Bergendal T, Forsgren L, Kvint S, Lowstedt E. The effect of an airabrasive instrument on soft and hard tissues around osseointegrated implants. A case report. *Swed Dent J* 1990; 14: 219-223
- ⁷¹ Romanos GE, Everts H, Nentwig GH. Effects of diode and Nd:YAG laser irradiation on titanium discs: a scanning electron microscope examination. *J Periodontol* 2000; 71: 810-815

⁷² Park CY, Kim SG, Kim MD, Eom TG, Yoon JH, Ahn SG. Surface properties of endosseous dental implants after Nd:YAG and CO₂ laser treatment at various energies. *J Maxillofac Surg* 2005; 63: 1522-1527

⁷³ Ahmad M, McCarthy MB, Gronowicz G. An *in vitro* model for mineralization of human osteoblast-like cells on implant materials. *Biomaterials* 1990; 20: 211-220

⁷⁴ Crouch SP, Kozlowski R, Slater KJ, Fletcher J. The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *J Immunol Methods* 1993; 160: 81-88

⁷⁵ Sahrman P, Ronay V, Sener B, Jung RE, Attin T, Schmidlin PR. Cleaning potential of glycine air-flow application in an *in vitro* peri-implantitis model. *Clin Oral Implants Res.* 2013; 24 (6): 666-70

Danksagung:

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Personen bedanken, die mich auf unterschiedlichste Art und Weise bei der Entstehung dieser Arbeit unterstützt haben

Mein außerordentlicher Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. F. Schwarz, der dieses Projekt eingeworben und mir freundlicherweise zur Bearbeitung zur Verfügung gestellt hat. Ebenso möchte ich mich für die stetige wissenschaftliche Anregung, Motivation und gute Zusammenarbeit in der Periimplantitissprechstunde bedanken.

In besonderem Maße möchte ich mich ebenfalls bei Prof. Dr. J. Becker bedanken, durch dessen außergewöhnlich intensive organisatorische Unterstützung dieses Projekt beschleunigt wurde. Weiterhin möchte ich mich an dieser Stelle für die Ausbildung zum Fachzahnarzt für Oralchirurgie bedanken.

Besonders hervorheben möchte ich an dieser Stelle meine Eltern Gladys Schaar und Dr. Gunter John. Aus Eurer explosiven Mischung hervorgegangen, habt Ihr mich mit Allem ausgestattet, was man benötigt, um Ziele zu erreichen, auch wenn einem das Glück nicht unbedingt in den Schoß fällt. Es tut gut, Euch immer im Hintergrund zu wissen.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Christina Lange bedanken. Du bist der Sonnenschein in meinem Leben! Ich danke Dir für Deine tägliche Unterstützung und die wundervolle Zeit mit Dir.

Ich möchte mich weiterhin ausdrücklich bei Sindy John bedanken. Trotz mehrerer hundert Kilometer Entfernung halten wir immer zusammen.

Dank gilt außerdem Vladimir Golubović und Thomas Kaiser für die gute Zusammenarbeit und die gute Stimmung „unter Tage“.