

Aus dem Institut für Orale Diagnostik, Digitale Zahnheilkunde und
Versorgungsforschung des Charité Centrums 3 für Zahn-, Mund- und
Kieferheilkunde der Medizinischen Fakultät Charité -Universitätsmedizin
Berlin

DISSERTATION

Entwicklung eines Anwendungsprotokolls eines radioopaken
Markierungsmaterials an selektiv exkavierten Kariesläsionen

Development of an application protocol of radioopaque tagging
material on selectively excavated caries lesions

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Sophia Tölle

Datum der Promotion: 03.12.2021

Inhaltsverzeichnis

1	Abbildungsverzeichnis	4
2	Tabellenverzeichnis.....	5
3	Abkürzungsverzeichnis	6
4	Zusammenfassung	7
4.1	Abstrakt Englisch	7
4.2	Abstrakt Deutsch	9
5	Einleitung	11
6	Methodik	16
6.1	Studiendesign	16
6.2	Markieren der Läsionen und transversale radiowellenunabhängige Mikroradiographie	16
6.3	Zugversuche	17
6.4	Mikroskopische Bildgebung	19
6.5	Statistische Auswertung	19
7	Ergebnisse	20
7.1	Markieren der kariösen Läsionen und röntgenologische Auswertung.....	20
7.2	SEM und EDS	22
7.3	Optische Effekte der Reinigungsschritte.....	23
7.4	Zugversuche	24
7.5	Auswirkung der Reinigungsschritte auf die Röntgenopazität.....	25
8	Diskussion	27
8.1	Limitationen	27
8.2	Diskussion der Ergebnisse	28
8.3	Ausblick	29
8.4	Schlussfolgerung	30
9	Literaturverzeichnis.....	31

10 Eidesstattliche Versicherung	35
11 Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation	36
12 Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of KnowledgeSM)	37
13 Publikation: Toelle, S., Holtkamp, A., Blunck, U., Paris, S., & Schwendicke, F. (2020). Improving the Bond Strength of Radiographically Tagged Caries Lesions In Vitro. <i>Materials</i> (<i>Basel, Switzerland</i>), 13(17), 3702.....	51
14 Lebenslauf	61
15 Publikationsliste	62
16 Danksagung	63

1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Venn-Diagramm der Karies (Meyer-Lückel, 2012).	11
Abbildung 2: Visualisierung der ökologischen Plaquehypothese (Meyer-Lückel, 2012).	13
Abbildung 3: Restaurationsspirale des Zahnes (Qvist, 2008)..	14
Abbildung 4: TWIM Aufnahmen nach Demineralisation.....	21
Abbildung 5: Mineralverluste in % im Vergleich zu unbehandelten Läsionen.	21
Abbildung 6: SEM-Analyse markierter Probenoberflächen.	22
Abbildung 7: Energiedispersive Röntgenelektroskopie von Dentinproben nach Markierung.	23
Abbildung 8: SnCl ₂ -Präzipitate.	24
Abbildung 9: μ-TBS Ergebnisse.	25
Abbildung 10: Vergleich der Markierungswirkung vor und nach Reinigung mittels TWIM .	26

2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Haftgruppen für Zugversuche.	11
--	----

3 Abkürzungsverzeichnis

μ TBS	Micro-tensile-bond-strength
Abb.	Abbildung
AQ	Destilliertes Wasser
BSE	Rückstreukontrast
E	Ethanol
EDS	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
MDP	10-Methacryloyloxydecyl Dihydrogen Phosphat (10-MDP)
REM	Rasterelektronenmikroskop
SnCl ₂	Zinn(II)chlorid
TWIM	Transversale wellenlängenunabhängige Mikroröntgenaufnahme

4 Zusammenfassung

4.1 Abstrakt Englisch

Selective excavation of deep carious lesions has been shown to reduce pulpal exposures and pulpal complications. Nevertheless the acceptance of selective excavation among practitioners is limited, possibly also due to diagnostic uncertainties related to the sealed but radiographically visible residual caries lesion. Radiopaque tagging procedures of the residual carious lesion with radiopaque tagging materials have been recommended to reduce this visibility, but these limit the microtensile bondstrength of dentin adhesives to the radiopaque tagged lesions. The aim of this study was to develop an application protocol that ensures reliable radiopaque masking of the lesion and does not further deteriorate the already reduced microtensile bondstrength between adhesives and carious dentin.

Carious lesions were artificially induced in human dentin slices and their mineral loss was determined using transversal wavelength-independent microradiography (TWIM). Different radiopaque tagging solutions (30%/50%/70% SnCl₂ dissolved in distilled water (AQ) or a 30%/60%/90% ethanol solution (E30/60/90)) were applied to the lesions, and the samples were evaluated again via TWIM (n=6/group). The solutions with the lowest SnCl₂ concentrations with optimal tagging effect were selected to determine the influence of the tagging solutions on the microtensile bond strength of a universal adhesive (Scotchbond Universal, 3M) to sound and carious dentin (n=10/group). To improve microtensile bondstrength, two protocols for removing excess tagging material were tested: Five second rotating brush application or 15-second phosphoric acid etching. The tagged and cleaned surfaces were analyzed via scanning/backscattered electron microscopy (SEM/BSE) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) after tagging and cleaning the surface, respectively. The most promising application protocol was reevaluated by microradiography.

Radiopacity was significantly increased by the tagging solutions with the most consistent results shown for tagging with 30% SnCl₂ AQ and 30% SnCl₂ E30. Microtensile bondstrength was significantly decreased by tagging on carious but not on sound dentin (p<0.01). Microscopically, a dense carpet of SnCl₂ precipitations was observed. Removal of precipitations on carious dentin by brush application showed a cleaning effect optically. Phosphoric acid etching also compensated for the reduction in bond strength (median; interquartile range: tagged and cleaned dentin 21.3 MPa; 10.8 MPa; untagged and uncleaned dentin: 17.4 MPa; 20.6 MPa); brush application failed to do so (13.2 MPa; 13.9 MPa). Phosphoric acid etching did not significantly reduce the increased radiopacity of the lesions caused by application of the tagging material (p=0.055).

The combination of radiopaque tagging and a subsequent cleaning step with phosphoric acid etching achieved masking of residual caries without reducing microtensile bondstrength of the universal adhesive used. Further questions including effects on pulpal health should be tested before clinical use.

4.2 Abstrakt Deutsch

Eine selektive Exkavation tiefer kariöser Läsionen ist nachweislich geeignet, Pulpaexpositionen und pulpale Komplikationen zu reduzieren. Nichtsdestotrotz ist die Akzeptanz der selektiven Exkavation unter Praktikern begrenzt, möglicherweise auch aufgrund diagnostischer Unsicherheiten in Zusammenhang mit der versiegelten, radiologisch aber sichtbaren Residualkariesläsion. Zur Reduktion dieser Sichtbarkeit wurden röntgenopake Markierungsverfahren der kariösen Restläsion mit röntgenopaken Markierungsmaterialien empfohlen. Diese schränken jedoch die Mikrozughaftung von Dentinadhäsiven an den röntgenopak markierten Läsionen ein. Ziel dieser Studie war es, ein Anwendungsprotokoll zu entwickeln, welches eine sichere röntgenopake Maskierung der Läsion gewährleistet und die ohnehin verminderte Mikrozughaftung zwischen Adhäsiven und kariösem Dentin nicht weiter verschlechtert.

Kariöse Läsionen wurden in humanen Dentinscheiben künstlich induziert und ihr Mineralverlust mit Hilfe der transversalen wellenunabhängigen Mikroradiographie (TWIM) bestimmt. Verschiedene röntgenopake Markierungslösungen (30%/50%/70%iges SnCl_2 gelöst in destilliertem Wasser (AQ) oder einer 30%/60%/90%igen Ethanollösung (E30/60/90)) wurden auf die Läsionen aufgetragen und die Proben erneut via TWIM evaluiert ($n=6$ /Gruppe). Die Lösungen mit den geringsten SnCl_2 -Konzentrationen bei optimalem Markierungseffekt wurden ausgewählt, um den Einfluss der Markierungslösungen auf die Mikrozughaftung eines Universaladhäsives (Scotchbond Universal, 3M) an gesundem und kariösem Dentin festzustellen ($n=10$ /Gruppe). Um die Mikrozughaftung zu verbessern, wurden zwei Protokolle zur Entfernung von überschüssigem Markierungsmaterial getestet: Fünf Sekunden rotierende Bürstenapplikation oder 15 Sekunden Phosphorsäureätzung. Die markierten und gereinigten Oberflächen wurden via Raster-/Rückstreuungselektronenmikroskopie (REM/BSE) und energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDS) jeweils nach Markierung und Reinigung der Oberfläche analysiert. Das erfolgversprechendste Applikationsprotokoll wurde erneut mikroradiografisch reevaluiert. Die Röntgenopazität wurde durch die Markierungslösungen signifikant erhöht, die konsistentesten Ergebnisse zeigten sich bei Markierung mit 30% SnCl_2 AQ und 30% SnCl_2 E30. Die Mikrozugfestigkeit wurde durch die Markierung an kariösem, nicht aber an gesundem Dentin signifikant verringert ($p<0,01$). Mikroskopisch wurde ein dichter Teppich aus SnCl_2 -Präzipitaten festgestellt. Die Entfernung der Präzipitate auf kariösem Dentin durch die Bürstenapplikation zeigte optisch einen Reinigungseffekt, die Phosphorsäureätzung kompensierte auch die Verringerung der Haftfestigkeit (Median; Interquartilbereich: markiertes und gereinigtes Dentin 21,3 MPa; 10,8 MPa; nicht markiertes und nicht gereinigtes Dentin: 17,4 MPa; 20,6 MPa); eine

Reinigung mit Bürstchen konnte dies nicht bewirken (13,2 MPa; 13,9 MPa). Die Phosphorsäureätzung reduzierte die durch die Applikation des Markierungsmaterials gesteigerte Röntgenopazität der Läsionen nicht signifikant ($p=0,055$).

Durch die Kombination einer röntgenopaken Markierung und einem anschließenden Reinigungsschritt mit Phosphorsäureätzung konnte eine Maskierung der Residualkaries ohne Verringerung der Mikrozughaftung des eingesetzten Universaladhäsives erreicht werden. Vor dem klinischen Einsatz sollten weitere Fragen, u.a. zu Auswirkungen auf die pulpare Gesundheit, getestet werden.

5 Einleitung

Karies an bleibenden Zähnen war 2010 die am weitesten verbreitete Krankheit, von der 35 % der Weltbevölkerung oder 2,4 Milliarden Menschen betroffen waren [1]. Das Verständnis der Karies basiert laut Miller ursprünglich auf einem chemo-parasitären Vorgang, bei dem Mikroorganismen aus niedrigmolekularen Kohlenhydraten organische Säuren bilden. Die von einem reifen dentalen Biofilm in Anwesenheit von fermentierbaren Kohlenhydraten gebildete Milchsäure führt zu einer Untersättigung des Speichels mit Kalzium und Phosphat und somit zu einer Demineralisation der Zahnhartsubstanz [2].

Über eine lange Zeitspanne galt Karies als übertragbare Infektionserkrankung, welche durch einige wenige Bakteriengattungen (Laktobazillen und Mutans-Streptokokken) ausgelöst wurde [3]. Beruhend auf dem historischen Verständnis der Karies als Infektionskrankheit wurden kariöse Läsionen non-selektiv, also vollständig bis ins gesunde Dentin exkaviert, um eine Restsubstanz frei von mikrobieller Besiedlung zu erhalten und die kariesverursachenden Mikroorganismen zu eliminieren. Nicht nur der infizierte, auch der demineralisierte Anteil des Dentins wurde entfernt. Neben der Elimination der Erreger sollte eine retentive Kavitätenform geschaffen werden, um zum Beispiel das Restaurationsmaterial Amalgam mit Hilfe unterschrittiger Präparation befestigen zu können [3,4,5].

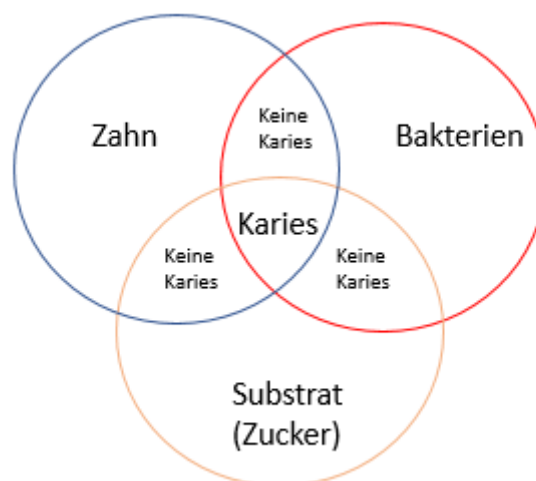


Abbildung 1: Venn-Diagramm der Karies (Meyer-Lückel, 2012). Nur wenn alle Faktoren vorhanden sind, kann es zu einem kariösen Vorgang kommen [2].

Heute wird die Karies im Rahmen der ökologischen Plaquehypothese als multifaktorielles dynamisches Geschehen betrachtet, bei dem vor allem die Faktoren Wirt, Substrat und Zeit eine

wichtige Rolle spielen. Die Umwandlung von einem physiologischen in einen pathologischen Biofilm erfolgt auf Grund von veränderten ökologischen Bedingungen, wie vor allem einer erhöhten Zufuhr von fermentierbaren Kohlenhydraten. Unter diesen neuen Umweltbedingungen entsteht für kariopathogene Bakterien ein Wettbewerbsvorteil, denn diese können die Kohlenhydrate zu organischen Säuren verstoffwechseln und so ein saures Milieu schaffen, indem die nicht kariogenen Bakterien verdrängt werden. Wenn wiederum die Kohlenhydratzufuhr verhindert wird, führt dies zu einem Nachteil der kariogenen Bakterien. Folglich kann durch die Beeinflussung des Biofilms der Kariesvorgang arretiert werden, ohne dass die Notwendigkeit besteht, alle kariogenen Mikroorganismen zu entfernen (vgl. Abb.1) [2].

Therapeutisch kann in den Kariesprozess zum Beispiel durch Modifikation der Nahrungszufuhr, Verbesserung der Mundhygiene oder durch Fluoridierung eingegriffen werden und eine Verschiebung zugunsten der Remineralisation erreicht werden (vgl. Abb.2). Somit kann die Progression der Karies aufgehalten werden [2]. Die genannten Maßnahmen werden als non-invasiv bezeichnet. Daneben existieren sogenannte mikroinvasive Therapieoptionen wie Kariesinfiltration oder Versiegelung von Läsionen, die eine Entfernung von wenigen Mikrometerbereich Zahnhartsubstanz während der Applikation erfordern. Mikroinvasive Maßnahmen sind nachweislich zur Therapie früher kariöser Läsionen wirksam, da sie eine Diffusionsbarriere auf oder in der Zahnhartsubstanz installieren, die eine Diffusion von Säuren in und von Mineralien aus der Zahnhartsubstanz heraus unterbinden [2]. Wenn Läsionen allerdings schon weit in das Dentin fortgeschritten sind und eine Kavitation entstanden ist, die die Reinigungsfähigkeit (z.B. mit häuslichem Zähneputzen) einschränkt, muss ein invasiver Eingriff in Form einer Exkavation sowie einer darauffolgenden Restauration erfolgen, um die Reinigungsfähigkeit, Ästhetik und Funktionalität des geschädigten Zahnes wiederherzustellen [2].

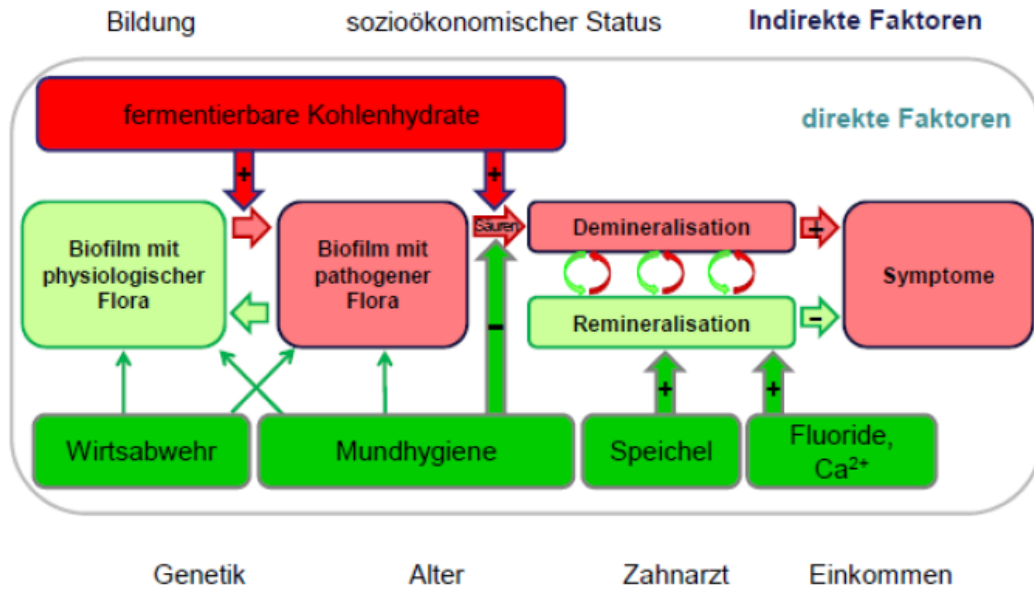


Abbildung 2: Visualisierung der ökologischen Plaquehypothese (Meyer-Lückel, 2012). In dunkelrot zeigt sich der wichtigste Faktor, die regelmäßige Aufnahme von fermentierbaren Kohlenhydraten. Hierdurch verändert sich der physiologische Biofilm in eine pathologische Richtung. Die produzierten Säuren führen zu einer Demineralisation der Zahnhartsubstanz bis hin zu etwaigen klinischen Symptomen. In Grün zeigen sich die positiven Faktoren, welche auf den Prozess einwirken und die Läsion remineralisieren und arretieren können. [2]

Besonders schonend für die pulpare Gesundheit zeigen sich moderne minimalinvasivere Vorgehensweisen, wie zum Beispiel die schrittweise oder die selektive Kariesexkavation, wobei beide Methoden sich nicht signifikant im Risiko des Restorationsversagens unterscheiden [6]. Bei der selektiven Entfernung wird kariöses Gewebe während der Exkavation bewusst nahe der Pulpa belassen, während in den peripheren Bereichen der Kavität die Exkavation durchgeführt wird, bis hartes Dentin verbleibt. Dieses Konzept basiert auf der Annahme, dass die Entfernung allen kariösen Dentins bei tiefen kariösen Läsionen für ein erfolgreiches Läsionsmanagement nicht erforderlich ist. Die Voraussetzung hierfür ist, dass die Restauration die Läsion effektiv von der oralen Umgebung abdichten kann [7]. Die Karies arretiert, wenn den verbliebenen Bakterien Kohlenhydrate als Substrat entzogen werden. Diverse Studien bestätigen, dass es keine signifikante Zunahme der Bakterienzahl unter dicht versiegelten Läsionen gibt, die Bakterienanzahl sich hingegen reduziert [8-12]. Die genannten Studien stimmen im Ergebnis überein, dass durch suffiziente Versiegelung einer Restläsion das Voranschreiten des pathologischen Prozesses be- bzw. verhindert werden kann.

Im Vergleich zur herkömmlichen non-selektiven Exkavation zeigt sich die selektive Kariesexkavation als gleichwertig im Auftreten von postoperativen pulpalen Symptomen [13-16]. Das Risiko der Eröffnung der Pulpa ist um 70% geringer als bei non-selektivem Exkavieren [13]. Die Vermeidung der Pulpaexposition führt zu weniger endodontischen Eingriffen, geringerem

finanziellen Aufwand und längerem Zahnerhalt [17]. Widersprüchlich erscheinen die Ergebnisse bisher bezüglich der Haltbarkeit der Restauration und der Integrität des Restaurationsrandes [18,19].

Trotz der genannten Vorteile gibt es immer noch eine geringe Anzahl von Zahnärzten, die selektive Kariesexkavation in ihren Berufsalltag integrieren [20-23]. Ein Grund der Ablehnung von selektiver Kariesentfernung ist unter anderem die diagnostische Unsicherheit, die röntgenologisch entsteht: Unter der Restauration bleibt ein demineralisierter Anteil des Dentins radiologisch erkennbar und ist nicht von einer Sekundärkaries oder weiterhin progressiven Residualläsion zu unterscheiden [24]. Dies könnte bei einem Zahnarztwechsel den neuen Behandler, welcher die Transluzenz als übersehene oder reaktivierte Läsion diagnostizieren könnte, dazu veranlassen, die Restauration auszutauschen, wobei erneuter Substanzverlust oder eine Eröffnung der Pulpa nicht ausgeschlossen ist [24]. Diese unnötige erneute Behandlung führt zu einem verfrühten Vorschreiten des Zahnes in die sogenannte Todesspirale des Zahnes (Abb. 3), also dem eskalierenden Verlust von Zahnhartsubstanz, steigenden Kosten und einer kleiner werdenden Auswahl an therapeutischen Optionen [25]. Wenn die Transluzenz unter der Restauration optisch nicht mehr zu sehen wäre, würde sie den Behandler nicht mehr zu einem Austausch der Restauration bewegen und ein Vorschreiten in der Restaurationsspirale könnte verhindert werden.

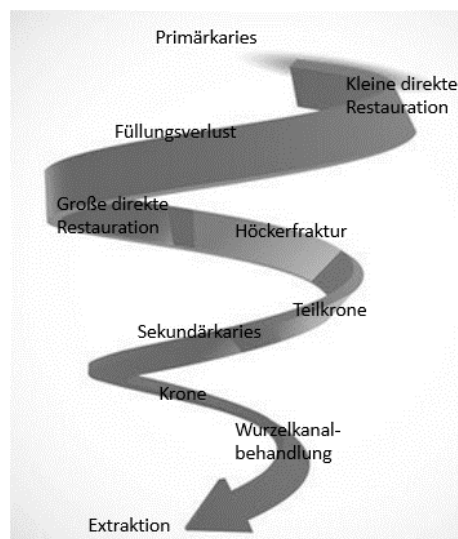


Abbildung 3: Restaurationsspirale des Zahnes (Qvist, 2008). Das primäre Ziel dieser wenig invasiven selektiven Kariesexkavation ist die Vermeidung eines verfrühten Vorschreitens in die Restaurationsspirale. Immer größer werdende Restaurationen führen schrittweise zum Zahnverlust [25].

Deshalb wurden Versuche unternommen, eine Lösung zu entwickeln, die die selektiv belassene Karies radioopaker erscheinen lässt [24, 26], um die oben genannte Fehldiagnose der reaktivierten oder übersehenen Läsion und somit eine nicht notwendige neue Restaurierung des Zahnes zu verhindern. In einer vorausgegangenen Arbeit wurden hierzu Lösungen mit Zinnchlorid und Zinnfluorid getestet [24,26]. In Wasser gelöstes Zinnchlorid zeigte hierbei einen ausgeprägten Markierungseffekt und half zudem dabei, zwischen inaktivierten und progressiven Läsionen differenzieren zu können [24,26].

Unklar erscheint nach aktueller Studienlage die Auswirkung eines solchen Markierens mit Zinnchlorid auf die Haftkraft anschließend platzierter adhäsiver Restaurationen: Hochkonzentriertes Zinnchlorid vermindert beispielsweise die Haftung von Etch-and-rinse Adhäsiven [26], bei Benutzung eines MDP-haltigen selbstätzenden Adhäsives waren die Haftwerte bei vorheriger Markierung mit Zinnchlorid hingegen teilweise verbessert [27]. Bei Anwendung anderer Metallionen, wie zum Beispiel Silberdiaminfluorid, wurden bereits diametrale Effekte auf die Haftkraft von Adhäsiven beobachtet [28], die möglicherweise an dem unregelmäßig verteilten Präzipitateppich liegen könnten, der eine gleichmäßige und konstante Haftung verhindert. Diesen Präzipitateppich zu entfernen, hat sich als haftkraftverbessernd erwiesen [29].

Zudem ist die Haftkraft abhängig vom Zustand des Dentins - kariös oder gesund. Diverse Studien haben gezeigt, dass die Haftkraft an kariös verändertem Dentin auf Grund der Veränderung der Belastbarkeit, der Härte und der Oberflächenqualität stark verringert ist. Die Bildung einer suffizienten Hybridschicht zwischen Dentin und Adhäsiv ist nicht möglich [26,30]. Es wäre erstrebenswert, ein Anwendungsprotokoll zu finden, welches die geringe Haftung an kariösem Dentin nicht noch weiter verschlechtert und gleichzeitig die Haftkraft an gesundem Dentin nicht verringert.

Ziel dieser Arbeit ist, ein Applikationsprotokoll für die Anwendung einer markierenden Opakerlösung zu erstellen, welches die entstehenden diagnostischen Schwierigkeiten nach selektiver Exkavation überwindet und die nachteiligen Effekte der Opakerlösung auf die Haftkraft dentaler Adhäsive minimiert [31]. Dies könnte mittelfristig dem klinischen Einsatz einer röntgenopaken Markierung den Weg ebnen.

6 Methodik

6.1 Studiendesign

Für die Entwicklung eines Applikationsprotokolls zur späteren klinischen Anwendung von einer röntgenopaken Markierungslösung wurden zunächst verschiedene Lösungsmittel (destilliertes Wasser (AQ) und Ethanol (30/60/90%)) ausgewählt und unterschiedliche Konzentrationen von SnCl_2 (30/50/90%) hinzugemischt. Diese Lösungen wurden auf ihre röntgenopake Wirkung getestet. Hierfür wurden Probenkörper für die transversale radiowellenunabhängige Mikroradiographie (TWIM) hergestellt, die Proben vor und nach Auftragen der Markierungslösung geröntgt und die optische Mineralisationszunahme prozentual bestimmt. Die Lösungen mit der höchsten Röntgenopazitätszunahme und den konsistentesten Ergebnissen wurden für weitere Versuche verwendet. Die markierten Oberflächen wurden anschließend mittels Rasterelektronenmikroskop (REM) und energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDS) analysiert. Es wurden dann Mikrozugfestigkeitsversuche (μTBS) mit zwei ausgewählten Lösungen durchgeführt. Anschließend wurden zwei verschiedene Reinigungsstrategien zur Entfernung der Präzipitate getestet (Nylonbürstchen und Säureätzung), erneut Mikrozugfestigkeitsversuche durchgeführt und das optimale Protokoll mikroradiografisch revalidiert.

6.2 Markieren der Läsionen und transversale radiowellenunabhängige Mikroradiographie

Zu Beginn der Studie wurde eine Genehmigung des Vorhabens durch die zuständige Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin eingeholt (Zeichen: EA4/102/14). Für die radiologische Auswertung mit transversaler radiowellenunabhängiger Mikroradiographie (TWIM) wurden 400 Proben ($4 \times 2 \times 2 \text{ mm}$) wie folgt angefertigt. Der koronale Schmelzanteil wurde entfernt (Band Saw EXAKT 300 CL, EXAKT Technologies, Norderstedt, Germany), wobei mikroskopisch (Axioplan 60318, Zeiss, Oberkochen, Deutschland) überprüft wurde, dass nur noch Dentin vorhanden war. Die Dentinscheiben wurden schrittweise (1000/2000/4000) auf 4000 Grit poliert (SiC paper, Struers, Willich, Germany). Danach wurden diese in Kunststoffharz (Technovit 4071, Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) eingebettet. Die Dentinscheiben wurden für neun Wochen in einer Demineralisationslösung (pH 5,7) bei 31 Grad Celsius im Brutschrank aufbewahrt [32]. Hierbei wurde die Lösung regelmäßig auf ihren pH-Wert überprüft (GMH 3530, Greisinger, Regenstauf, Deutschland) überprüft. Nach neun Wochen in der Demineralisationslösung wurde jede der 400 Proben einmal mittels TWIM [19] bei

standardisierten Aufnahmebedingungen (40kV/30mA/05sec) und 35 mm Filmen (B/W positive, Fujifilm, Tokyo, Japan) geröntgt. Die Filme wurden entwickelt (R09 One Shot, B&W Film Developer, Connect Chemicals, Ratingen, Deutschland) und nach Trocknung mit Hilfe eines Mikroskops (Axioplan 60318, Zeiss, Oberkochen, Deutschland) digitalisiert (CFW1312M, Scion, Frederick, MD, USA) Der Mineralverlust sowie die Läsionstiefe wurden mittels TMR 2000 (2.0.27.2, UMCG, Groningen, Niederlande) analysiert. Die Proben wurden dann mit 30/50/90% SnCl₂ (Sigma Aldrich, St. Louis, MI, USA) in verschiedenen Lösungsmitteln (AQ/E30/E60/E90%) (J.T.Baker, Deventer, Niederlande) markiert. Hierbei wurden die Proben jeweils fünf Sekunden luftgetrocknet und dann zweimal für 15 Sekunden mit einer Microbrush (ca. 20 µl) die Lösung aufgetragen. Der Überschuss der Markierungslösung wurde mit einer neuen trockenen Microbrush entfernt. Anschließend wurde jede Probe ein zweites Mal mittels TWIM evaluiert und der Mineralverlust sowie die Läsionstiefe erneut bestimmt. Der Mineralgewinn wurde wie folgt bestimmt:

$$\Delta\Delta\text{MLT} = \frac{(\text{MLT1} - \text{MLT2})}{\text{MLT1}} \times 100$$

MLT1 zeigt den Mineralverlust direkt nach der Demineralisation an und MLT2 den Mineralverlust nach dem Auftragen der Opakerlösung.

Die Proben mit dem vielversprechendsten Applikationsprotokoll wurden nach Anwendung des Reinigungsschrittes (s.u.) ein drittes Mal via TWIM geröntgt und anschließend analysiert.

6.3 Zugversuche

Es wurden 40 natürliche, bleibende und kariesfreie Molaren ausgewählt und in Kunstharz eingebettet. Der koronale Schmelzanteil wurde entfernt und auch hier sorgfältig vor der Politur geprüft, ob Schmelzreste vorhanden waren. Die Dentinscheiben wurden auf 4000 Grit poliert. Fünfundzwanzig Molaren mit freigelegtem koronalen Dentin wurden wurzelwärts mit Sekundenkleber (UHU dent, UHU, Bühl) auf Objektträger geklebt und für zehn Wochen in Demineralisationslösung (pH 5,3, 37 Grad Celsius) gelagert, um erneut künstliche kariöse Läsionen zu erzeugen. Fünfzehn Molaren wurden nicht demineralisiert (gesunde Flächen).

SnCl₂-Lösungen mit konsistenten Markierungseffekten (s.o.) wurden ausgewählt (dies waren jeweils 30% SnCl₂ in E30 oder AQ gelöst) und auf 22 kariöse sowie zwölf gesunde Zähne wie beschrieben aufgetragen. Als unbehandelte Kontrollgruppe fungierten drei gesunde sowie drei kariöse Zähne, die nicht markiert wurden. Die markierten Oberflächen wurden dann teilweise mittels Phosphorsäureätzung oder rotierenden Bürstchen gereinigt. Insgesamt ergaben sich 18 Gruppen aus kombinierten Applikations- und Entfernungsprotokollen (Tab. 1).

Tabelle 1: Testgruppen für Haftversuche

Gruppe	Zahnhartsubstanz		Lösung			Reinigungsschritt		
	Nr	gesund	kariös	E30	AQ	ohne	Phosphorsäure	Bürstchen
1	x		x			x		
2	x		x				x	
3	x		x					x
4	x			x		x		
5	x			x			x	
6	x			x				x
7	x				x	x		
8	x				x		x	
9	x				x			x
10		x	x			x		
11		x	x				x	
12		x	x					x
13		x		x		x		
14		x		x			x	
15		x		x				x
16		x			x	x		
17		x			x		x	
18		x			x			x

Die Reinigung erfolgte nach Auftragen der Markierungslösung durch (a) Ätzung der Probe für 15 Sekunden mit 37% Phosphorsäure (Henry Schein, Deutschland) und 20 Sekunden Absprühen mit Wasser oder (b) Reinigung für fünf Sekunden mit einem rotierenden Bürstchen (Prophy Brush, Henry Schein). Anschließend wurde ein Universaladhäsiv (Scotchbond Universal, 3M, St. Paul, MN, USA) für 20 Sekunden in die Dentinoberfläche aktiv einmassiert und verblasen, bis keine Bewegung des Adhäsives mehr sichtbar war, und 25 Sekunden lichtpolymerisiert (Valo, Ultradent, Salt Lake City, UT, USA). Eine Kompositrestauration (Ceram.X Spectra, Dentsply, Konstanz, Deutschland) wurde in 2mm Inkrementen bis zu einer Höhe von 6 mm aufgeschichtet und jeweils ebenso für 40 Sekunden mit 1400 mW/cm² und 1 mm Entfernung wie beschrieben polymerisiert. Alle Proben wurden in destilliertem Wasser aufbewahrt.

Um gleichgroße Quader mit einer rechteckigen Verbundfläche von ca. 1mm² zu erhalten, wurde mit Hilfe einer Säge (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) unter geringer Geschwindigkeit, Wasserkühlung und wenig Anpressdruck gesägt, bis ca. 20 Quader pro Zahn erreicht waren. Daraus wurden zufällig zehn ausgewählt. Die Größe der Verbundfläche wurde mit Hilfe einer elektronischen Schieblehre (ELMAG, Ried, Österreich) überprüft. Um die Mikrozugfestigkeit zu bestimmen, wurden die Quader mittels Komposit (Tetric Flow, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) an den angerauten Prüfkörper befestigt. Dabei wurde genau darauf geachtet, dass

die Verbundstelle nicht mit Komposit benetzt wird. Die Zugbelastung betrug 0.5 mm/min (Zwick, Ulm, Deutschland) [26]. Die maximale Zugkraft vor Bruch des Verbundes wurde zur Bestimmung der Mikrozugfestigkeit μTBS (=maximale Zugkraft/Querschnitt der Verbundfläche) verwendet. Nach Bruch des Haftverbundes wurde jede Probe mikroskopisch unter 45-facher Vergrößerung (Stemi, Zeiss) analysiert, um den Bruchmodus festzustellen. Hierbei wurde zwischen Frakturen (1) im Dentin, (2) zwischen Adhäsiv und Dentin, (3) zwischen Adhäsiv und Komposit, (4) kombiniertem Frakturmodus und (5) zwischen den einzelnen geschichteten Inkrementen im Komposit selbst unterschieden.

6.4 Mikroskopische Bildgebung

Um die Oberfläche der markierten Proben visuell zu evaluieren, wurden diese für 48 Stunden luftgetrocknet, dann in einer Haltevorrichtung im Rasterelektronenmikroskop (Phenom SEM, Thermofisher Scientific Inc, Waltham, USA) befestigt und mit 10 kv Beschleunigungsspannung 300 Sekunden belichtet. Via BSE wurde der Materialkontrast der Oberfläche dargestellt. Zur Analyse der chemischen Zusammensetzung der Oberflächenpräzipitate wurden die Proben zudem nach Kohlenstoffbeschichtung mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie CamScan MaXim microscope (CamScan, Cambridge, England) untersucht und die Ergebnisse dargestellt (ESPRIT 2.0, Bruker Nano, Berlin, Deutschland). Die Beschleunigungsspannung betrug bei der EDS-Evaluation 15 kv.

6.5 Statistische Auswertung

Die Statistische Auswertung wurde mit SPSS 20 (IBM, Armonk, NY, USA) durchgeführt. Die Normalverteilung wurde mit Hilfe des Shapiro-Will Tests beurteilt. Mittels generalisierter linearer Modelle und dem zweiseitigen Mann-Whitney U-Test wurden die Opazitätsänderungen analysiert, wobei positive Werte von $\Delta\Delta\text{MLT}$ eine vergrößerte Röntgenopazität, also einen positiven Effekt der Markierungslösung zeigen. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 0,05$ festgelegt.

7 Ergebnisse

Die folgenden Ergebnisse wurden bereits in der Publikation „Improving the Bond Strength of Radiographically Tagged Caries Lesions In Vitro“ veröffentlicht [31].

7.1 Markieren der kariösen Läsionen und röntgenologische Auswertung

Wie in Abbildung 4 beispielhaft zu erkennen ist, zeigen die Markierungslösungen deutliche Effekte und maskieren die kariöse Läsion, überkompensieren diese sogar teilweise.

In fast allen Gruppen zeigte sich eine sichtbare Erhöhung der Röntgenopazität durch röntgenopake Markierung. Einzig 30% SnCl₂ E60 und 30% SnCl₂ E90 zeigten keine signifikante Erhöhung der Röntgenopazität (siehe Abb.5). Bei 70% SnCl₂ E60, sowie 70% SnCl₂ E90 zeigten sich die größten lösungsinternen Ergebnisunterschiede bezüglich der Markierungswirkung. Die Amplitude reicht in diesen beiden Gruppen von teilweise negativen Werten von $\Delta\Delta\text{MLT}$, demzufolge einer Reduzierung der Röntgenopazität, bis hin zu Werten von über 300%. Wir vermuteten einen Zusammenhang mit der Inhomogenität der 70%igen SnCl₂ Lösungen, welche in E60 und E90 gelöst waren. Während der Versuche zeigten sich starke Ausflockungen am Boden der Lösungsbehälter, welche auch durch sorgfältige Durchmischungsversuche nicht zu lösen waren. Diese könnten die inkonsistenten Gruppenergebnisse erklären. Im Allgemeinen führte eine erhöhte Konzentration von SnCl₂ allgemein zu mehr Röntgenopazität.

Die konstantesten Ergebnisse wurden bei Anwendung von 30% SnCl₂ mit AQ und E30 (siehe Abb.5) beobachtet, weshalb entschieden wurde, die weiteren Versuche nur mit diesen Lösungen durchzuführen.

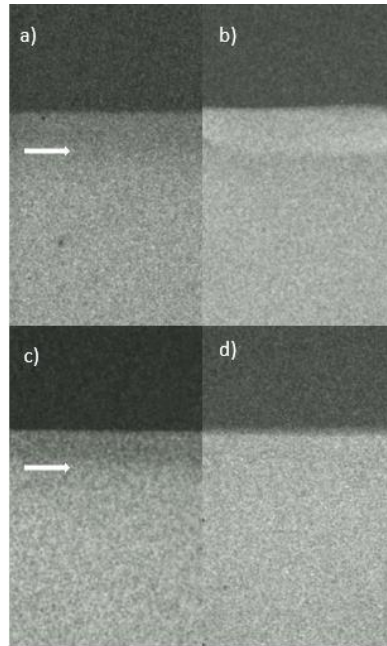


Abbildung 4: TWIM Aufnahmen nach Demineralisation zum Zeitpunkt MLT1 (a, c) und nach Markierung mittels 30% SnCl₂ und E30 (b) und 30% SnCl₂ und AQ (d) zum Zeitpunkt MLT2. Die Pfeile kennzeichnen die Demineralisationsfront. Die röntgenopake Markierung kompensiert (d) oder überkompensiert (b) die Radioluzenz der Läsion.

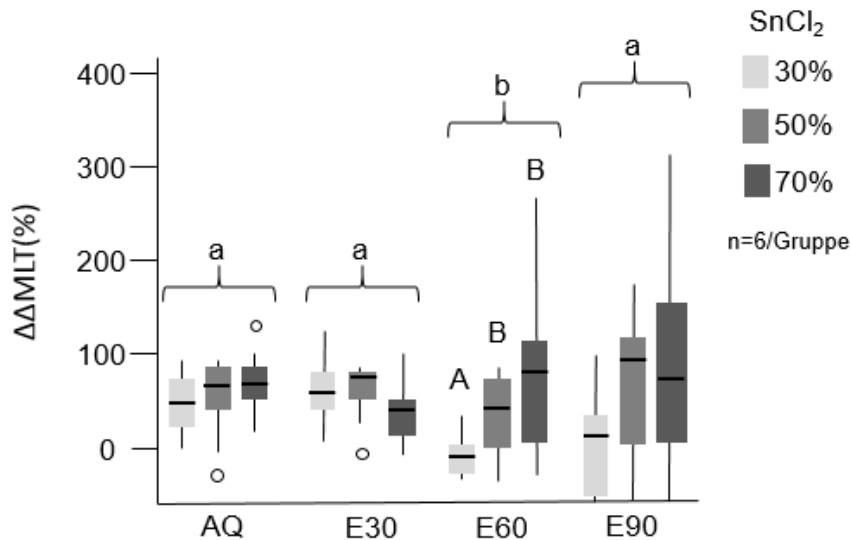


Abbildung 5: Mineralverluste in % im Vergleich zu unbehandelten Läsionen. $\Delta\Delta\text{MLT}$ (%) beschreibt den prozentualen Mineralverlust in Läsionen, die mit 30%, 50% oder 70% SnCl₂ gelöst in AQ, E30, E60 und E90 markiert wurden. Großbuchstaben kennzeichnen statistische signifikante Unterschiede innerhalb der jeweiligen Lösungsmittelgruppen, kleine Buchstaben zeigen Unterschiede zwischen den verschiedenen Lösungsmittelgruppen an. Positive Werte zeigen einen Mineralisationsgewinn, also einen wirksamen Markierungseffekt der Opakerlösung. n=Gruppengröße, Box und Linie: Interquartilbereich und Median, obere/untere Antenne: Maximum/Minimum, Kreise: Ausreißer [31]

7.2 SEM und EDS

Im SEM zeigt sich nach Markierung ein dichter Teppich aus Präzipitaten auf der Dentinoberfläche (Abb.6).

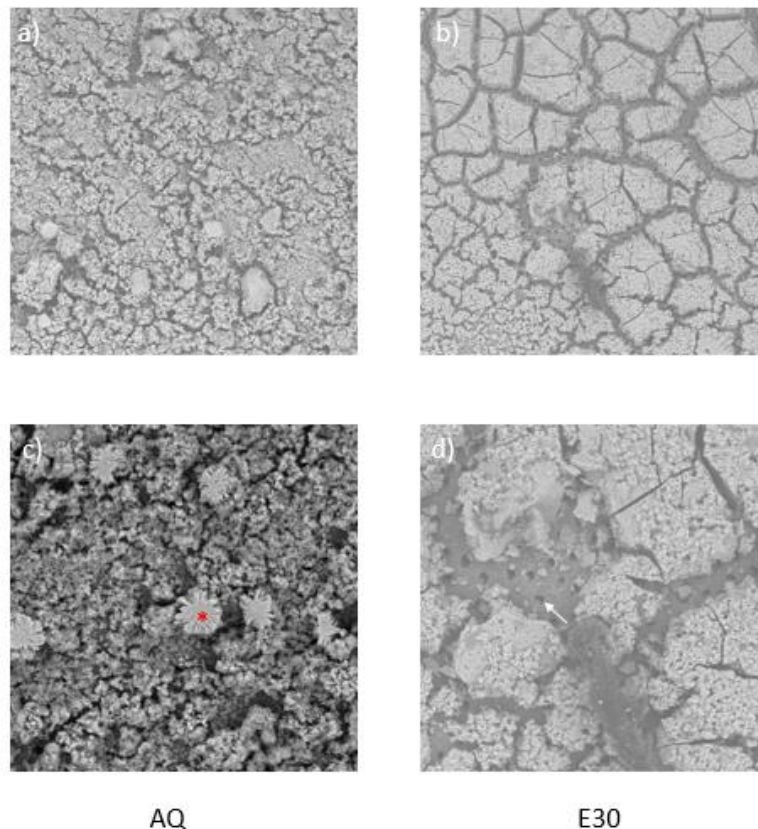


Abbildung 6: SEM-Analyse markierter Probenoberflächen. 1400×Vergrößerung (a, b) bzw. 3200×Vergrößerung (c, d). Präzipitate der Opakerlösung auf Basis von AQ (a, c) und E30 (b, d) Sternchen: SnCl₂ Kristalle. Pfeil: Dentintubuli

Wie in Abb.6 erkenntlich, führte die Markierung mit 30% SnCl₂ E30 zu einer flächigen Präzipitatablagerung in größeren Inseln. Mittels EDS ließ sich nachweisen, dass die Auflagerungen hauptsächlich aus Zinn und Chlorid bestehen (vgl. Abb.7). Die Markierung mit 30% SnCl₂ und AQ führte zu eher kristallinen Ablagerungen; auch hier konnte die chemische Analyse Zinn und Chlorid nachweisen.

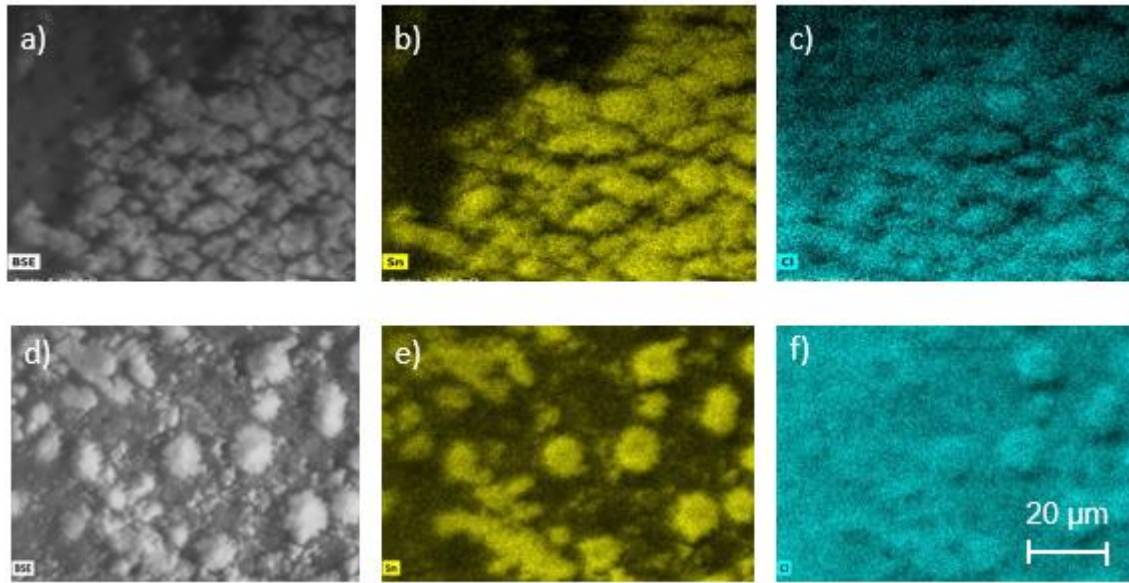


Abbildung 7: Energiedispersive Röntgenelektroskopie von Dentinproben nach Markierung mit 30% SnCl_2 mit E30 (a, b, c) und 30% SnCl_2 mit AQ (d, e, f). BSE (Rasterelektronenmikroskopie) (a, d) und EDS-Analyse (b, c, e, f). Gelbe und blaue Markierungen zeigen Zinn und Chlorid an.

7.3 Optische Effekte der Reinigungsschritte

Vor Reinigung zeigt sich ein dichter Teppich von Opakermaterial über den Dentintubuli. Sowohl eine Säureätzung als auch die Anwendung von Bürstchen zeigten einen optischen Reinigungseffekt. Nach Säureätzung verblieb Markierungsmaterial vor allem in den Dentintubuli, nach Reinigung mit Bürstchen zeigten sich schlierenartige SnCl_2 Reste auf der gesamten Probenoberfläche (Abb. 8).

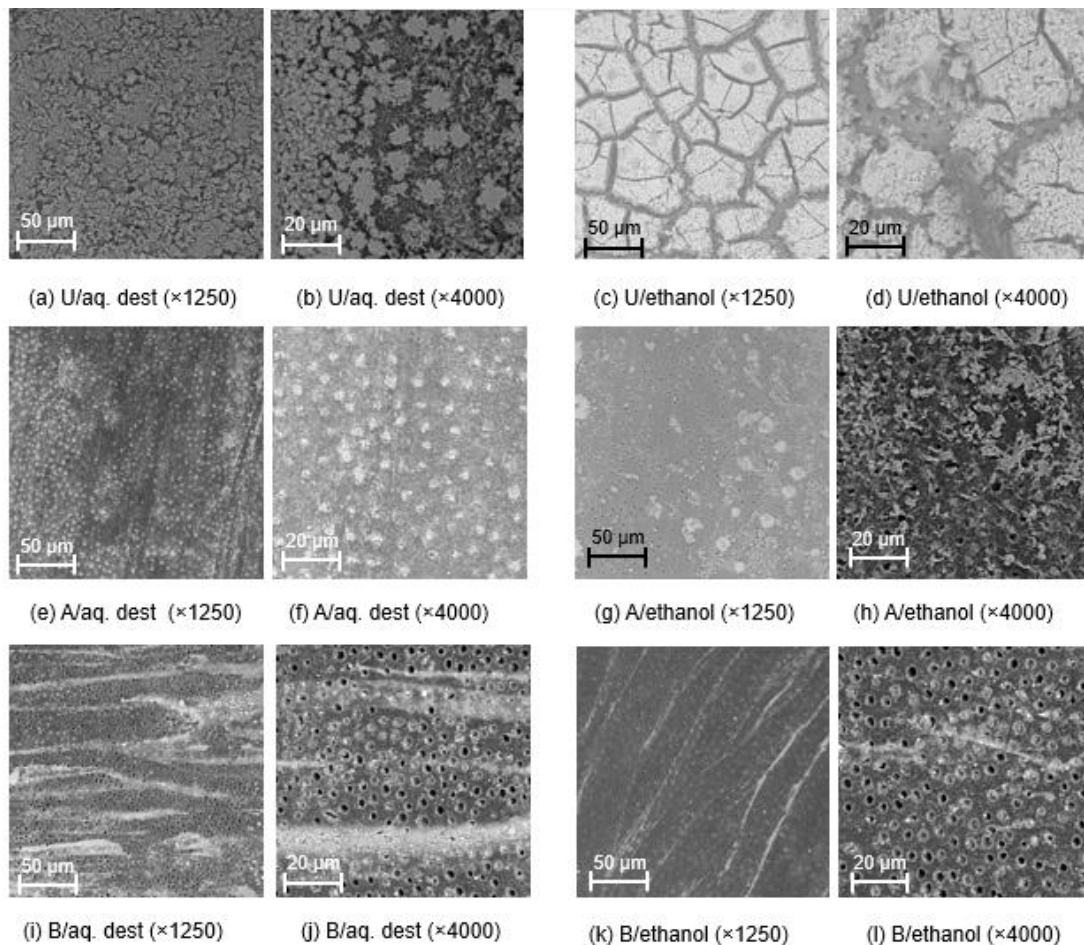


Abbildung 8: SnCl₂-Präzipitate. Mittels SEM wurden Präzipitate von 30% SnCl₂ gelöst in AQ (a, b, e, f, i, j) oder E30 (c, d, g, h, k, l) vor Reinigung (a, b, c, d), nach Applikation von Phosphorsäure (e, f, g, h) oder nach Reinigung von Bürstchen (i, j, k, l) dargestellt [31].

7.4 Zugversuche

Nicht markiertes gesundes Dentin zeigte im Gegensatz zu kariösem Dentin eine statistisch signifikant geringere Haftfestigkeit ($p < 0,05$ (Mann-Whitney)) (Abb.9). Das Auftragen der Opakerlösung verringerte die Haftfestigkeit am kariösen Dentin deutlich, hatte jedoch auf die Haftkräfte an gesundem Dentin keine statistisch signifikanten negativen Auswirkungen. AQ erreichte im Vergleich zu E30 deutlich höhere Verbundstärken auf gesundem Dentin ($p < 0,05$). Nach Verwendung von Bürsten kam es nicht zu einer signifikanten Erhöhung der Haftfestigkeit an gesundem Dentin. Die negativen Auswirkungen auf die Haftfestigkeit nach Auftragen der Opakerlösungen auf kariösem Dentin konnten ebenfalls nicht ausgeglichen werden. Die Ätzung mit Phosphorsäure führte dazu, dass sich die Haftfestigkeit von unbehandelten Proben nicht signifikant von mit AQ markierten Proben auf kariösem Dentin unterschied. Generell wurden nach Säureätzung an gesunden Proben nach der Markierung höhere Haftwerte festgestellt, wobei

die Werte sogar höher waren, als an nicht geätzten (markierten oder unmarkierten) Oberflächen ($p < 0,05$). Bei allen Proben wurde ein Haftversagen zwischen Adhäsivsystem und Dentin festgestellt.

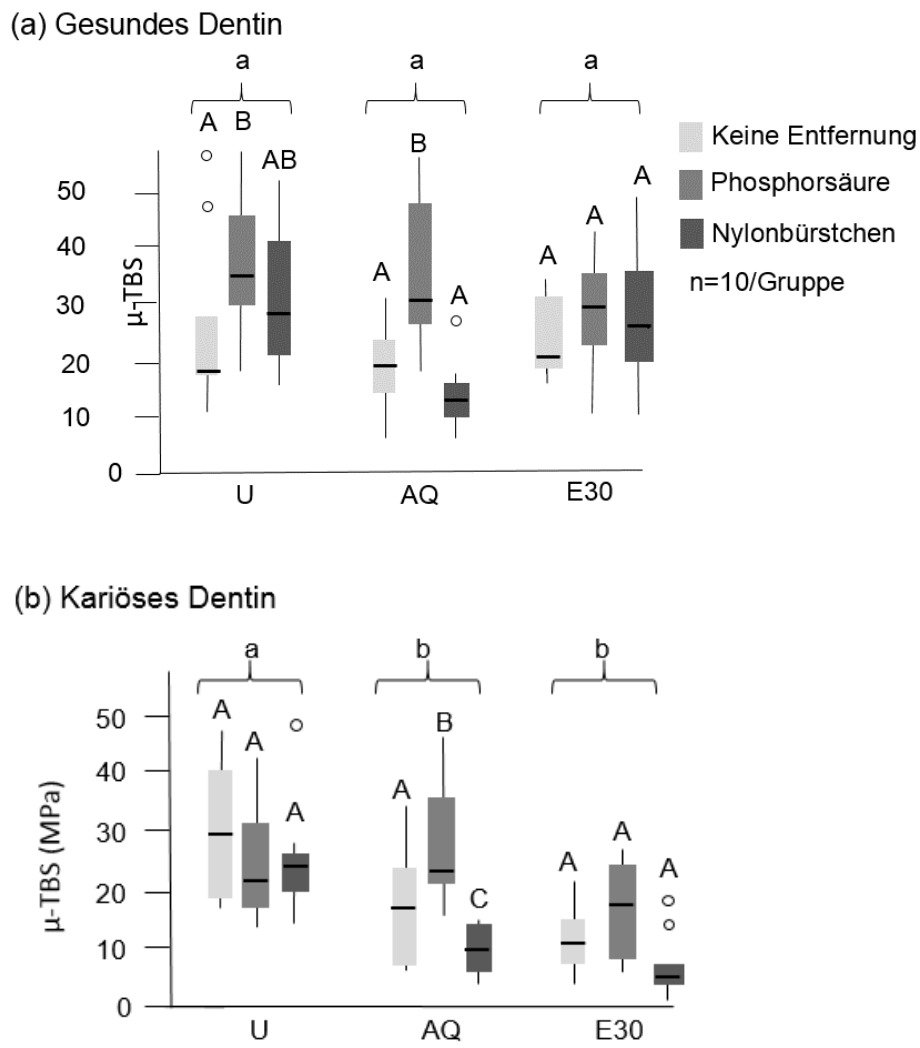


Abbildung 9: μ -TBS Ergebnisse. Haftwerte gemessen in MPa von gesundem (a) und kariösem (b) Dentin ohne Reinigungsschritte (hellgrau), nach Phosphorsäureätzung (mittelgrau) und nach der Reinigung mit Bürstchen (dunkelgrau). Ohne Markierungslösung (U), mit SnCl₃30% gelöst in destilliertem Wasser (AQ) oder gelöst in 30% Ethanol (E30). Kleine Buchstaben kennzeichnen Unterschiede zwischen den Gruppen, Großbuchstaben Unterschiede innerhalb der Gruppen. n= Gruppengröße. Box und Linie: Interquartilbereich und Median, obere/untere Antenne: Maximum/Minimum, Kreise: Ausreißer [31]

7.5 Auswirkung der Reinigungsschritte auf die Röntgenopazität

Aufgrund der Tatsache, dass die Haftwerte nach Phosphorsäureätzung am höchsten waren, wurden Proben nach Applikation dieses Protokolls erneut mit TWIM analysiert. Röntgenologisch kam es durch die Ätzung nicht zu einer statistisch signifikanten, optisch aber geringgradig detektierbaren Abnahme des röntgenopaken Effekts (Abb. 10).

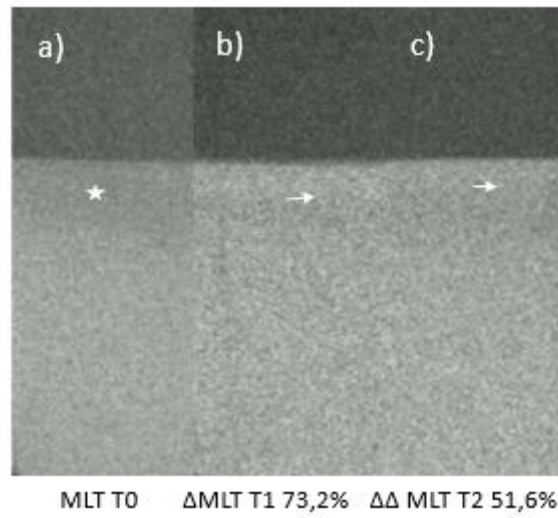


Abbildung 10: Vergleich der Markierungswirkung vor und nach Reinigung mittels TWIM. a) Demineralisiertes Dentin ohne Opakerlösung, b) nach Auftragen von 30% SnCl₂ + E30, c) nach anschließender Phosphorsäureätzung. Sternchen: künstlich induzierte Läsion. Pfeile: Markierungsmaterial

8 Diskussion

Die vorliegende In-vitro-Studie untersuchte mögliche Anwendungsprotokolle für röntgenopake Markierungslösungen zur Maskierung kariöser Restläsionen [31]. Die selektive Kariesexkavation hat einen positiven Effekt auf die pulpale Gesundheit. Verbleibende Radiotransluzenzen zwischen selektiv exkavierten Läsionen und neuen Restaurationen sorgen für diagnostische Unsicherheiten unter Zahnärzten. Um diese diagnostischen Unsicherheiten zu minimieren, wurden Lösungen mit Zinnchlorid in verschiedenen Lösungsmedien getestet, um einen möglichst starken Markierungseffekt zu erhalten. Gleichzeitig sollten die negativen Auswirkungen der Markierungslösungen auf die Mikrozughaftung minimiert werden. Im Rahmen der Nullhypothesenformulierung wurde angenommen, dass durch die Anwendung des entwickelten Protokolls keine signifikanten Unterschiede zwischen der Mikrozughaftung von Universaladhäsiven an markierten und unmarkierten Flächen mehr bestehen würde.

8.1 Limitationen

Diese Studie unterliegt diversen Limitationen.

- (1) Die Dentinproben wurden, um eine möglichst glatte Oberfläche zu erreichen, plangeschliffen. In vivo wäre die Läsionsoberfläche rau und entspräche keiner bestimmten geometrischen Form. Die Haftwerte könnten sich klinisch anders darstellen.
- (2) Die Kontrolle des Markierungseffektes erfolgte nur zweidimensional. Eine dreidimensionale Bildgebung könnte genauere Informationen generieren. Allerdings erfolgt die klinische Kariesdiagnostik ebenfalls zweidimensional. Zudem schafft das verwendete TWIM-Protokoll reproduzierbarere Bilder und wurde bereits validiert [33].
- (3) Es wurde nur der Einsatz von SnCl_2 als Opaker getestet, obwohl noch weitere Substanzen (z. B. Zinnfluorid) hätten getestet werden können. Jedoch wurden in einer vorausgegangenen Studie bereits einige Vorteile der Anwendung von Zinnchlorid nachgewiesen; das Material kann als Standard zur röntgenopaken Markierung von Karies betrachtet werden [26].
- (4) Es wurde lediglich ein einzelnes Universaladhäsiv eingesetzt; die Ergebnisse sind vermutlich nur bedingt auf andere universal- oder selbstätzende oder, mehr noch, Etch-and-Rinse-Adhäsive übertragbar.
- (5) Einzig eine Art der Applikation des Röntgenopakers (15 sec Microbrush) wurde getestet. Eine längere Applikation könnte zu einem besseren Eindringen des Materials in tiefere

Schichten der induzierten Läsion führen und somit den Opakereffekt verstärken. Ob eine längere Einwirkzeit klinisch akzeptabel wäre, darf diskutiert werden.

- (6) Wir entwickelten künstlich induzierte Kariesläsionen an gesunden Dentinproben, anstatt an natürlichen Läsionen zu arbeiten. Die hier verwendeten Modelle zur Erzeugung von Läsionen wurden in vorausgegangenen Studien validiert [32].
- (7) Das entwickelte Protokoll sollte möglichst leicht zu erlernen und in den klinischen Alltag zu integrieren sein, weshalb wir außer der Markierungslösung auf bereits vorhandene, oft in der Füllungstherapie genutzte, Materialien zurückgegriffen haben (z.B. 37% Phosphorsäure).

8.2 Diskussion der Ergebnisse

Die verlässlichsten Markierungseffekte zeigten sich bei 30% SnCl₂ gelöst in AQ oder E30 [31]. Dies erscheint zunächst unerwartet, da angenommen werden könnte, hochkonzentrierte Zinnchloridlösungen würden zu einer stärkeren Markierung führen. Bei Durchführung der Versuche imponierte jedoch ein starker Sedimentierungseffekt des Zinnchlorids innerhalb der Lösung; Zinnkristalle sammelten sich am Boden des Gefäßes. Auch durch ausgiebiges Umrühren konnte nur bedingt eine homogene Lösung erreicht werden. Für die klinische Anwendung erscheinen diese hochkonzentrierten Lösungen somit nicht brauchbar, da ihr Markierungseffekt auf Grund der Inhomogenität nicht reproduzierbar ist; zudem ist eine sofortige Ausfällung an der Oberfläche zu erwarten, was sich wiederum negativ auf die Haftwerte adhäsiver Restaurationen auswirken könnte.

Divergierend zu vorherigen Ergebnissen [30] sind die Haftwerte bei der vorliegenden Studie an demineralisiertem Dentin besser als an gesundem Dentin [31]. Dies lässt sich vermutlich dadurch erklären, dass die raue kariöse Oberfläche mehr Mikroporositäten aufwies, somit eine größere Haftoberfläche besaß, und der Kariesangriff zudem einen Teil der bei Politur entstandenen Schmierschicht entfernt hat. Die gesunden Dentinproben haben nach dem Politurvorgang keinen Kariesangriff erfahren, sodass die Schmierschicht verblieb. Zudem stellten Lawson et al. keinen signifikanten Einfluss des Säureätzens vor der Anwendung von Scotchbond Universal auf die Mikrozughaftung fest [34]. Hier jedoch sind die Haftwerte an gesundem, nicht markiertem, säuregeätztem Dentin höher als an nicht geätztem Dentin. Dies könnte ebenfalls daran liegen, dass die durch die Politur der Proben entstandene Schmierschicht durch die Phosphorsäureätzung teilweise entfernt wird. Das verwendete Adhäsiv kann somit besser in die Dentintubuli eindringen. Dieser positive Effekt der Säureätzung auf die Haftkraft wurde an kariösem, nichtmarkiertem

Dentin nicht festgestellt, vermutlich da die Schmierschicht durch den Säureangriff der Kariesinduktionslösung bereits entfernt wurde.

Das Säureätzen nach dem Aufbringen der Markierungslösung zeigte vorteilhafte Auswirkungen auf die Haftkraft. Jedoch kann die Dentinpermeabilität durch pulpanahes Säureätzen stark erhöht werden [35]. Bei verstärktem Austreten von Dentinliquor besteht die Gefahr einer Flüssigkeitsansammlung, die die Polymerisation der Hybridschicht zwischen Dentin und Adhäsiv inhibiert. Dies könnte sich wiederum negativ auf die Haftkraft auswirken und es kann zu postoperativen Sensibilitäten kommen. Heute wird diese Problematik bei korrekter Anwendung des Universaladhäsives und einer möglichst schnell darauffolgenden Applikation einer hydrophoben Deckschicht - zum Beispiel in Form eines Flowables - als weniger kritisch eingeschätzt [36].

Mit dem hier verwendeten MDP-haltigen Adhäsiv ergaben sich in Kombination mit Säureätzung signifikant höhere Haftwerte an markiertem Dentin als an unmarkiertem Dentin [31]. Begründen könnte sich dies in der Annahme, dass Zinn möglicherweise den Verbund zwischen Kollagen und MDP verstärkt [37]. Durch das Säureätzen wird eine möglichst sichere Diffusion der Monomere in das durch die Phosphorsäure-Ätzung tiefer freigelegte Kollagenetzwerk ermöglicht.

Keinen positiven Effekt auf die Haftwerte zeigte die Anwendung von Bürstchen statt Säureätzung. Elektronenmikroskopisch konnte zwar auch für die Applikation eines rotierenden Bürstchens ein Effekt auf die Oberflächenpräzipitate gefunden werden, jedoch konnten die Haftwerte nicht verbessert werden. Wie in Abb.7 sichtbar, treibt die Nutzung von Bürstchen die Präzipitate in die Dentintubuli und generiert „Streifen“ von Ablagerung [31] Beides könnte die Bildung einer suffizienten Hybridschicht zwischen Adhäsiv und Dentin verhindern.

8.3 Ausblick

Eine Reihe weiterer Aspekte sind relevant. So sollte untersucht werden, welchen Einfluss eine röntgenopake Markierung auf weitere durchstrahlende Diagnostika, zum Beispiel fiberoptische oder Nahinfrarot-Transillumination, hat. Auch sollte nochmals bestätigt werden, dass der erreichte Opazitätsgewinn nach Applikation des vorgeschlagenen Protokolls ausreichend ist, um das Verhalten von Behandlern zu beeinflussen und ihre Entscheidungsfindung hinsichtlich eines Füllungsaustausch zielgerichtet zu modifizieren [24]. Auch der Einfluss der Markierung auf die pulpare Gesundheit sollte untersucht werden.

8.4 Schlussfolgerung

Schlussfolgernd könnte die röntgenopake Markierung von kariösen Restläsionen dazu beitragen, die diagnostischen Unklarheiten, die verbunden mit selektiver Kariesexkavation entstehen, zu beseitigen. Die Akzeptanz der Therapieform innerhalb der Zahnärzteschaft könnte besonders durch die Einfachheit des angewendeten Protokolls erhöht werden. Innerhalb der Limitationen dieser Studie zeigt sich, dass bei Anwendung des hier verwendeten Universaladhäsives ein Säureätzen der radioopakmarkierten Oberfläche die negativen Effekte der Opakerlösung auf die Mikrozughaftung abmildert und gleichzeitig die Radiomarkierung erhält.

9 Literaturverzeichnis

- [1] Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J., & Marcenes, W. (2015). Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *Journal of dental research*, 94(5), 650–658. <https://doi.org/10.1177/0022034515573272>
- [2] Meyer-Lückel, H., Paris, S., Ekstrand, K. (2012). *Karies* (1. Auflage). Thieme
- [3] Schwendicke, F., Frencken, J. E., Bjørndal, L., Maltz, M., Manton, D. J., Ricketts, D., Van Landuyt, K., Banerjee, A., Campus, G., Doméjean, S., Fontana, M., Leal, S., Lo, E., Machiulskiene, V., Schulte, A., Splieth, C., Zandona, A. F., & Innes, N. P. (2016). Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Carious Tissue Removal. *Advances in dental research*, 28(2), 58–67. <https://doi.org/10.1177/0022034516639271>
- [4] Black GV: The Technical Procedures in Filling Teeth. A Work on Operative Dentistry. Chicago, Medico-Dental Publishing, 1908, vol 2.
- [5] Innes, N. P., Frencken, J. E., Bjørndal, L., Maltz, M., Manton, D. J., Ricketts, D., Van Landuyt, K., Banerjee, A., Campus, G., Doméjean, S., Fontana, M., Leal, S., Lo, E., Machiulskiene, V., Schulte, A., Splieth, C., Zandona, A., & Schwendicke, F. (2016). Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Terminology. *Advances in dental research*, 28(2), 49–57. <https://doi.org/10.1177/0022034516639276>
- [6] Labib, M. E., Hassanein, O. E., Moussa, M., Yassen, A., & Schwendicke, F. (2019). Selective versus stepwise removal of deep carious lesions in permanent teeth: a randomised controlled trial from Egypt-an interim analysis. *BMJ open*, 9(9), e030957. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-030957>
- [7] Thompson, V., Craig, R. G., Curro, F. A., Green, W. S., & Ship, J. A. (2008). Treatment of deep carious lesions by complete excavation or partial removal: a critical review. *Journal of the American Dental Association (1939)*, 139(6), 705–712. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0252>
- [8] Oong, E. M., Griffin, S. O., Kohn, W. G., Gooch, B. F., & Caufield, P. W. (2008). The effect of dental sealants on bacteria levels in caries lesions: a review of the evidence. *Journal of the American Dental Association (1939)*, 139(3), 271–358. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0156>
- [9] Bakhshandeh, A., Qvist, V., & Ekstrand, K. R. (2012). Sealing occlusal caries lesions in adults referred for restorative treatment: 2-3 years of follow-up. *Clinical oral investigations*, 16(2), 521–529. <https://doi.org/10.1007/s00784-011-0549-4>

- [10] Mertz-Fairhurst, E. J., Curtis, J. W., Jr, Ergle, J. W., Rueggeberg, F. A., & Adair, S. M. (1998). Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: results at year 10. *Journal of the American Dental Association (1939)*, 129(1), 55–66.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.1998.0022>
- [11] Ganas, P., & Schwendicke, F. (2019). Effect of reduced nutritional supply on the metabolic activity and survival of cariogenic bacteria *in vitro*. *Journal of oral microbiology*, 11(1), 1605788. <https://doi.org/10.1080/20002297.2019.1605788>
- [12] Marggraf, T., Ganas, P., Paris, S., & Schwendicke, F. (2018). Bacterial reduction in sealed caries lesions is strain- and material-specific. *Scientific reports*, 8(1), 3767.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-21842-8>
- [13] Li, T., Zhai, X., Song, F., & Zhu, H. (2018). Selective versus non-selective removal for dental caries: a systematic review and meta-analysis. *Acta odontologica Scandinavica*, 76(2), 135–140. <https://doi.org/10.1080/00016357.2017.1392602>
- [14] Ricketts, D., Lamont, T., Innes, N. P., Kidd, E., & Clarkson, J. E. (2013). Operative caries management in adults and children. *The Cochrane database of systematic reviews*, (3), CD003808. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003808.pub3>
- [15] Schwendicke, F., Dörfer, C. E., & Paris, S. (2013). Incomplete caries removal: a systematic review and meta-analysis. *Journal of dental research*, 92(4), 306–314.
<https://doi.org/10.1177/0022034513477425>
- [16] Maltz, M., & Alves, L. S. (2013). Incomplete caries removal significantly reduces the risk of pulp exposure and post-operative pulpal symptoms. *The journal of evidence-based dental practice*, 13(3), 120–122. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2013.07.014>
- [17] Schwendicke, F., Stolpe, M., Meyer-Lueckel, H., Paris, S., & Dörfer, C. E. (2013). Cost-effectiveness of one- and two-step incomplete and complete excavations. *Journal of dental research*, 92(10), 880–887. <https://doi.org/10.1177/0022034513500792>
- [18] Schwendicke, F., Kern, M., Blunck, U., Dörfer, C., Drenck, J., & Paris, S. (2014). Marginal integrity and secondary caries of selectively excavated teeth *in vitro*. *Journal of dentistry*, 42(10), 1261–1268. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.08.002>
- [19] Hevinga, M. A., Opdam, N. J., Frencken, J. E., Truin, G. J., & Huysmans, M. C. (2010). Does incomplete caries removal reduce strength of restored teeth?. *Journal of dental research*, 89(11), 1270–1275. <https://doi.org/10.1177/0022034510377790>
- [20] Weber, C. M., Alves, L. S., & Maltz, M. (2011). Treatment decisions for deep carious lesions in the Public Health Service in Southern Brazil. *Journal of public health dentistry*, 71(4), 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1752-7325.2011.00258.x>

- [21] Oen, K. T., Thompson, V. P., Vena, D., Caufield, P. W., Curro, F., Dasanayake, A., Ship, J. A., & Lindblad, A. (2007). Attitudes and expectations of treating deep caries: a PEARL Network survey. *General dentistry*, 55(3), 197–203.
- [22] Schwendicke, F., Meyer-Lueckel, H., Dörfer, C., & Paris, S. (2013). Attitudes and behaviour regarding deep dentin caries removal: a survey among German dentists. *Caries research*, 47(6), 566–573. <https://doi.org/10.1159/000351662>
- [23] Schwendicke, F., & Göstemeyer, G. (2016). Understanding dentists' management of deep carious lesions in permanent teeth: a systematic review and meta-analysis. *Implementation science: IS*, 11(1), 142. <https://doi.org/10.1186/s13012-016-0505-4>
- [24] Schwendicke, F., Meyer-Lueckel, H., Schulz, M., Dörfer, C. E., & Paris, S. (2014). Radiopaque Tagging Masks Caries Lesions following Incomplete Excavation in vitro. *Journal of dental research*, 93(6), 565–570. <https://doi.org/10.1177/0022034514531291>
- [25] Qvist, V. (2008). Longevity of restorations - "the death spiral". *Dental Caries - the Disease and Its Clinical Management*, 443–455.
- [26] Umwali, A., Askar, H., Paris, S., & Schwendicke, F. (2016). Radiographic, antibacterial and bond-strength effects of radiopaque caries tagging. *Scientific reports*, 6, 27319. <https://doi.org/10.1038/srep27319>
- [27] Peutzfeldt, A., Koch, T., Ganss, C., Flury, S., & Lussi, A. (2014). Effect of tin-chloride pretreatment on bond strength of two adhesive systems to dentin. *Clinical oral investigations*, 18(2), 535–543. <https://doi.org/10.1007/s00784-013-0975-6>
- [28] Jiang, M., Mei, M. L., Wong, M., Chu, C. H., & Lo, E. (2020). Effect of silver diamine fluoride solution application on the bond strength of dentine to adhesives and to glass ionomer cements: a systematic review. *BMC oral health*, 20(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-1030-z>
- [29] Lutgen, P., Chan, D., & Sadr, A. (2018). Effects of silver diammine fluoride on bond strength of adhesives to sound dentin. *Dental materials journal*, 37(6), 1003–1009. <https://doi.org/10.4012/dmj.2017-401>
- [30] Yoshiyama, M., Tay, F. R., Doi, J., Nishitani, Y., Yamada, T., Itou, K., Carvalho, R. M., Nakajima, M., & Pashley, D. H. (2002). Bonding of self-etch and total-etch adhesives to carious dentin. *Journal of dental research*, 81(8), 556–560. <https://doi.org/10.1177/154405910208100811>

- [31] Toelle, S., Holtkamp, A., Blunck, U., Paris, S., & Schwendicke, F. (2020). Improving the Bond Strength of Radiographically Tagged Caries Lesions In Vitro. *Materials (Basel, Switzerland)*, *13*(17), 3702. <https://doi.org/10.3390/ma13173702>
- [32] Schwendicke, F., Eggers, K., Meyer-Lueckel, H., Dörfer, C., Kovalev, A., Gorb, S., & Paris, S. (2015). In vitro Induction of residual caries lesions in dentin: comparative mineral loss and nano-hardness analysis. *Caries research*, *49*(3), 259–265. <https://doi.org/10.1159/000371897>
- [33] Thomas, R. Z., Ruben, J. L., de Vries, J., ten Bosch, J. J., & Huysmans, M. C. (2006). Transversal wavelength-independent microradiography, a method for monitoring caries lesions over time, validated with transversal microradiography. *Caries research*, *40*(4), 281–291. <https://doi.org/10.1159/000093186>
- [34] Lawson, N. C., Robles, A., Fu, C. C., Lin, C. P., Sawlani, K., & Burgess, J. O. (2015). Two-year clinical trial of a universal adhesive in total-etch and self-etch mode in non-cariou cervical lesions. *Journal of dentistry*, *43*(10), 1229–1234. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.07.009>
- [35] Pashley, D. H., Thompson, S. M., & Stewart, F. P. (1983). Dentin permeability: effects of temperature on hydraulic conductance. *Journal of dental research*, *62*(9), 956–959. <https://doi.org/10.1177/00220345830620090801>
- [36] Reis, A., Albuquerque, M., Pegoraro, M., Mattei, G., Bauer, J. R., Grande, R. H., Klein-Junior, C. A., Baumhardt-Neto, R., & Loguercio, A. D. (2008). Can the durability of one-step self-etch adhesives be improved by double application or by an extra layer of hydrophobic resin?. *Journal of dentistry*, *36*(5), 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2008.01.018>
- [37] Flury, S., Koch, T., Peutzfeldt, A., Lussi, A., & Ganss, C. (2013). The effect of a tin-containing fluoride mouth rinse on the bond between resin composite and erosively demineralised dentin. *Clinical oral investigations*, *17*(1), 217–225. <https://doi.org/10.1007/s00784-012-0697-1>

10 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Sophia Tölle versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Entwicklung eines Anwendungsprotokolls eines radioopaken Markierungsmaterials an selektiv exkavierten Kariesläsionen“, bzw. „Development of an application protocol of radioopaque tagging material on selectively excavated caries lesions“ ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

11 Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Publikation 1:

Toelle, S., Holtkamp, A., Blunck, U., Paris, S., & Schwendicke, F. (2020). Improving the Bond Strength of Radiographically Tagged Caries Lesions In Vitro. *Materials (Basel, Switzerland)*, 13(17), 3702. <https://doi.org/10.3390/ma13173702>

Beitrag im Einzelnen:

- Entwicklung des Studienkonzeptes
- Mitgestaltung und Planung des Versuchsaufbaus
- Durchführung und Auswertung aller Vorversuche
- Probenherstellung für TWIM
- Erstellung, analoge Entwicklung, Digitalisierung der Mikroröntgenographien
- Mineralverlustanalyse via TMR
- Konzeption der Reinigungsschritte, erneute Mikroröntgenographie und Mineralisationsanalyse
- Probenherstellung für die Zugversuche
- Durchführung der Zugversuche
- Datenanalyse der Zugversuche
- Mikroskopische Bildgebung via SEM, EDS sowie Oberflächenanalyse via BSE der Proben
- Hauptverantwortliche Datengewinnung
- Erstellung der Abbildungen (Abb.4, 6, 7,10),
- Analyse und Interpretation aller Daten
- Entwurf und Überarbeitung des Manuskriptes

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

12 Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of KnowledgeSM)

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2018** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **“MATERIALS SCIENCE, MULTIDISCIPLINARY”**
 Selected Category Scheme: WoS
Gesamtanzahl: 293 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	Nature Reviews Materials	7,901	74.449	0.033870
2	Nature Energy	11,113	54.000	0.040630
3	NATURE MATERIALS	97,792	38.887	0.177380
4	Nature Nanotechnology	63,245	33.407	0.154960
5	ADVANCED MATERIALS	229,186	25.809	0.409390
6	Advanced Energy Materials	50,724	24.884	0.120610
7	Materials Today	12,566	24.372	0.018830
8	PROGRESS IN MATERIALS SCIENCE	14,580	23.725	0.016820
9	MATERIALS SCIENCE & ENGINEERING R-REPORTS	7,206	22.250	0.006250
10	INTERNATIONAL MATERIALS REVIEWS	5,262	21.086	0.004960
11	Annual Review of Materials Research	8,086	16.816	0.007830
12	Nano Today	7,980	16.582	0.012950
13	ACS Energy Letters	10,134	16.331	0.031350
14	Advanced Science	8,129	15.804	0.021030
15	ADVANCED FUNCTIONAL MATERIALS	95,431	15.621	0.175970
16	Nano Energy	37,106	15.548	0.087250
17	Materials Horizons	4,587	14.356	0.013710
18	ACS Nano	152,659	13.903	0.325710
19	NANO LETTERS	163,570	12.279	0.300620
20	Small	49,968	10.856	0.091450
21	Journal of Materials Chemistry A	126,338	10.733	0.295190

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
22	CHEMISTRY OF MATERIALS	106,568	10.159	0.150260
23	npj Computational Materials	954	9.200	0.003660
24	Nanoscale Horizons	888	9.095	0.002340
25	Nano-Micro Letters	2,209	9.043	0.003590
26	Nano Research	16,517	8.515	0.031810
27	ACS Applied Materials & Interfaces	170,096	8.456	0.366360
28	CURRENT OPINION IN SOLID STATE & MATERIALS SCIENCE	3,955	8.418	0.004700
29	NPG Asia Materials	4,387	8.052	0.011090
30	Applied Materials Today	1,608	8.013	0.003470
31	PROGRESS IN PHOTOVOLTAICS	8,325	7.776	0.011390
32	JOURNAL OF POWER SOURCES	116,432	7.467	0.134510
33	CARBON	74,892	7.466	0.085220
34	Materials Research Letters	1,564	7.440	0.005230
35	2D Materials	5,487	7.343	0.022810
36	Journal of Physical Chemistry Letters	45,404	7.329	0.124340
37	ACTA MATERIALIA	73,990	7.293	0.090910
38	Additive Manufacturing	2,445	7.173	0.005200
39	ACS Photonics	9,956	7.143	0.033670
40	Advanced Optical Materials	8,586	7.125	0.026060
41	Nanoscale	92,732	6.970	0.208040
42	Nanophotonics	1,936	6.908	0.006090
43	Virtual and Physical Prototyping	993	6.825	0.001870

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
44	Journal of Materials Chemistry C	40,067	6.641	0.097440
45	CRITICAL REVIEWS IN SOLID STATE AND MATERIALS SCIENCES	1,475	6.455	0.001690
46	CORROSION SCIENCE	37,952	6.355	0.028720
47	Advanced Electronic Materials	3,886	6.312	0.011930
48	SOLAR ENERGY MATERIALS AND SOLAR CELLS	30,400	6.019	0.031820
49	INTERNATIONAL JOURNAL OF PLASTICITY	11,299	5.800	0.013670
50	MATERIALS & DESIGN	53,840	5.770	0.089000
51	Science China-Materials	1,878	5.636	0.003590
52	CEMENT AND CONCRETE RESEARCH	34,278	5.618	0.016250
53	Advanced Materials Technologies	1,429	5.395	0.003380
54	JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE & TECHNOLOGY	6,753	5.040	0.009080
55	Sustainable Energy & Fuels	1,344	4.912	0.002650
56	IUCrJ	1,363	4.756	0.006430
57	Advanced Materials Interfaces	6,238	4.713	0.016510
58	MRS BULLETIN	7,862	4.655	0.010250
59	SCRIPTA MATERIALIA	33,032	4.539	0.033680
60	Journal of Physical Chemistry C	149,348	4.309	0.216950
61	APL Materials	4,061	4.296	0.014770
62	PARTICLE & PARTICLE SYSTEMS CHARACTERIZATION	3,379	4.194	0.006390
63	MICROPOROUS AND MESOPOROUS MATERIALS	25,303	4.182	0.024180
64	JOURNAL OF MATERIALS PROCESSING TECHNOLOGY	33,606	4.178	0.021130
65	JOURNAL OF ALLOYS AND COMPOUNDS	102,817	4.175	0.131760

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
66	CRYSTAL GROWTH & DESIGN	29,940	4.153	0.037860
67	JOURNAL OF THE MECHANICS AND PHYSICS OF SOLIDS	18,866	4.087	0.019250
68	MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING A-STRUCTURAL MATERIALS PROPERTIES MICROSTRUCTURE AND PROCESSING	79,492	4.081	0.065810
69	Extreme Mechanics Letters	1,439	4.075	0.005890
70	CONSTRUCTION AND BUILDING MATERIALS	56,987	4.046	0.063710
71	Nanomaterials	4,955	4.034	0.008390
72	Liquid Crystals Reviews	176	3.917	0.000810
73	APPLIED CLAY SCIENCE	15,784	3.890	0.014850
74	PHYSICAL REVIEW B	371,919	3.736	0.363380
75	Physica Status Solidi-Rapid Research Letters	3,346	3.729	0.008100
76	LANGMUIR	117,927	3.683	0.096010
77	INTERNATIONAL JOURNAL OF FATIGUE	13,715	3.673	0.014320
78	SCIENCE AND TECHNOLOGY OF ADVANCED MATERIALS	5,047	3.585	0.005870
79	Smart Materials and Structures	19,870	3.543	0.025150
80	Materials Science and Engineering B-Advanced Functional Solid-State Materials	10,565	3.507	0.005690
81	ORGANIC ELECTRONICS	12,429	3.495	0.018640
82	JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE	50,817	3.442	0.034620
83	NANOTECHNOLOGY	43,992	3.399	0.048160
83	Soft Matter	36,016	3.399	0.066600
85	IEEE Journal of Photovoltaics	4,887	3.398	0.011360

Selected JCR Year: 2018; Selected Categories: "MATERIALS SCIENCE, MULTIDISCIPLINARY"

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
86	ChemNanoMat	1,249	3.379	0.003310
87	MATERIALS RESEARCH BULLETIN	21,620	3.355	0.018260
88	INTERMETALLICS	10,599	3.353	0.010410
89	MATERIALS AND MANUFACTURING PROCESSES	5,749	3.350	0.005230
90	Journal of Materials Research and Technology- JMR&T	1,327	3.327	0.002420
91	Nano Convergence	461	3.324	0.001220
92	Progress in Natural Science- Materials International	4,119	3.310	0.004270
93	3D Printing and Additive Manufacturing	505	3.259	0.001280
94	MATERIALS CHARACTERIZATION	11,421	3.220	0.016140
95	Nanoscale Research Letters	16,143	3.159	0.023390
96	International Journal of Mechanics and Materials in Design	800	3.143	0.001220
97	LIQUID CRYSTALS	5,589	3.078	0.004380
98	Results in Physics	3,539	3.042	0.004650
99	MACROMOLECULAR MATERIALS AND ENGINEERING	5,400	3.038	0.005180
100	CMC-Computers Materials & Continua	611	3.024	0.000400
101	MATERIALS LETTERS	46,192	3.019	0.049070
102	Materials	18,764	2.972	0.030940
103	MECHANICS OF MATERIALS	7,353	2.958	0.008250
104	WEAR	27,268	2.950	0.016150
105	Physical Review Materials	1,584	2.926	0.004750
105	Plasmonics	3,701	2.926	0.006180
107	ADVANCED ENGINEERING MATERIALS	8,426	2.906	0.009140

Selected JCR Year: 2018; Selected Categories: "MATERIALS SCIENCE, MULTIDISCIPLINARY"

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
108	GEOSYNTHETICS INTERNATIONAL	1,519	2.890	0.001730
109	INTERNATIONAL JOURNAL OF FRACTURE	7,329	2.884	0.004880
110	MECHANICS OF ADVANCED MATERIALS AND STRUCTURES	1,856	2.873	0.002890
111	SYNTHETIC METALS	13,769	2.870	0.008890
112	Archives of Civil and Mechanical Engineering	1,854	2.846	0.002680
113	RAPID PROTOTYPING JOURNAL	4,335	2.801	0.003450
114	INTERNATIONAL JOURNAL OF REFRACTORY METALS & HARD MATERIALS	6,419	2.794	0.007080
115	MATERIALS CHEMISTRY AND PHYSICS	27,209	2.781	0.020070
116	Nanotechnology Reviews	547	2.759	0.001090
117	MATERIALS SCIENCE IN SEMICONDUCTOR PROCESSING	7,465	2.722	0.012310
118	Molecular Systems Design & Engineering	333	2.708	0.000990
119	Frontiers in Materials	520	2.689	0.001530
120	OPTICAL MATERIALS	13,169	2.687	0.015290
121	JOURNAL OF MAGNETISM AND MAGNETIC MATERIALS	36,072	2.683	0.029830
122	MICROSCOPY AND MICROANALYSIS	3,877	2.673	0.008070
122	Optical Materials Express	5,968	2.673	0.013100
124	SEMICONDUCTOR SCIENCE AND TECHNOLOGY	8,188	2.654	0.010140
125	CALPHAD-COMPUTER COUPLING OF PHASE DIAGRAMS AND THERMOCHEMISTRY	3,759	2.652	0.002920
126	COMPUTATIONAL MATERIALS SCIENCE	21,210	2.644	0.025900
127	Advances in Concrete Construction	178	2.618	0.000260
128	Particuology	2,714	2.616	0.004330

Selected JCR Year: 2018; Selected Categories: "MATERIALS SCIENCE, MULTIDISCIPLINARY"

6

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
129	JOURNAL OF NON-CRYSTALLINE SOLIDS	25,962	2.600	0.012370
130	JOURNAL OF INTELLIGENT MATERIAL SYSTEMS AND STRUCTURES	7,259	2.582	0.007190
131	FATIGUE & FRACTURE OF ENGINEERING MATERIALS & STRUCTURES	4,738	2.555	0.003850
132	MATERIALS AND STRUCTURES	10,201	2.548	0.011230
133	JOURNAL OF NUCLEAR MATERIALS	30,454	2.547	0.031700
134	VACUUM	8,923	2.515	0.008400
135	INTERNATIONAL JOURNAL OF ADHESION AND ADHESIVES	5,403	2.501	0.004990
136	Journal of Experimental Nanoscience	1,133	2.482	0.001560
137	INTERNATIONAL JOURNAL FOR NUMERICAL AND ANALYTICAL METHODS IN GEOMECHANICS	5,651	2.481	0.006780
138	Surface Topography-Metrology and Properties	384	2.439	0.001300
139	JOURNAL OF ADHESION	2,172	2.366	0.001440
140	SCIENCE AND TECHNOLOGY OF WELDING AND JOINING	3,712	2.358	0.002990
141	INTERNATIONAL JOURNAL OF DAMAGE MECHANICS	1,326	2.342	0.001700
142	JOM	8,860	2.305	0.012740
143	IEEE TRANSACTIONS ON NANOTECHNOLOGY	3,531	2.292	0.004840
144	DIAMOND AND RELATED MATERIALS	8,081	2.290	0.005640
145	GOLD BULLETIN	1,204	2.279	0.000590
146	Journal of Photonics for Energy	651	2.277	0.001190
147	Beilstein Journal of Nanotechnology	4,022	2.269	0.008930
148	Metals	3,234	2.259	0.005210
149	EXPERIMENTAL MECHANICS	5,373	2.256	0.006050

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
150	Journal of Nanomaterials	9,024	2.233	0.014630
151	Applied Sciences-Basel	5,955	2.217	0.008890
152	JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE-MATERIALS IN ELECTRONICS	17,675	2.195	0.022350
153	Science China-Technological Sciences	3,722	2.180	0.006390
154	Heritage Science	461	2.165	0.001490
155	GRANULAR MATTER	2,196	2.145	0.004120
156	International Journal of Concrete Structures and Materials	695	2.111	0.001240
157	Advances in Nano Research	193	2.109	0.000270
158	Crystals	1,829	2.061	0.003660
159	Advances in Production Engineering & Management	283	2.047	0.000360
160	MAGAZINE OF CONCRETE RESEARCH	3,242	2.026	0.002610
161	CURRENT APPLIED PHYSICS	7,228	2.010	0.007700
162	JOURNAL OF NANOPARTICLE RESEARCH	13,067	2.009	0.013400
163	METALLURGICAL AND MATERIALS TRANSACTIONS A-PHYSICAL METALLURGY AND MATERIALS SCIENCE	29,084	1.985	0.020490
164	JOURNAL OF MATERIALS IN CIVIL ENGINEERING	9,149	1.984	0.009880
165	JOURNAL OF MATERIALS RESEARCH	16,212	1.982	0.011580
166	Road Materials and Pavement Design	1,894	1.980	0.002760
167	Photonics and Nanostructures-Fundamentals and Applications	832	1.957	0.001330
168	JOURNAL OF CULTURAL HERITAGE	3,219	1.955	0.002950

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
169	METALLURGICAL AND MATERIALS TRANSACTIONS B-PROCESS METALLURGY AND MATERIALS PROCESSING SCIENCE	8,885	1.952	0.007950
170	JOURNAL OF POROUS MATERIALS	2,851	1.947	0.003060
171	MATERIALS SCIENCE AND TECHNOLOGY	7,422	1.938	0.006800
172	MRS Communications	974	1.935	0.003020
173	JOURNAL OF ELASTICITY	2,340	1.906	0.002490
174	THIN SOLID FILMS	39,892	1.888	0.022040
175	MATERIALES DE CONSTRUCCION	825	1.886	0.000820
176	Electronic Materials Letters	1,271	1.881	0.002190
177	CORROSION	5,846	1.865	0.003340
178	IEEE Transactions on Components Packaging and Manufacturing Technology	5,550	1.860	0.006560
179	Materials Today Communications	534	1.859	0.001000
180	PHILOSOPHICAL MAGAZINE	14,052	1.855	0.008160
181	REVIEWS ON ADVANCED MATERIALS SCIENCE	1,657	1.828	0.001870
182	MODELLING AND SIMULATION IN MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING	5,015	1.826	0.005890
183	MATERIALS TECHNOLOGY	1,150	1.820	0.001580
184	Carbon Letters	655	1.807	0.000820
185	ECS Journal of Solid State Science and Technology	3,080	1.795	0.007330
186	MATHEMATICS AND MECHANICS OF SOLIDS	1,167	1.791	0.002690
187	RARE METALS	1,869	1.785	0.002080
188	APPLIED PHYSICS A-MATERIALS SCIENCE & PROCESSING	17,393	1.784	0.016900

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
189	Image Analysis & Stereology	348	1.778	0.000310
190	International Journal of Material Forming	1,243	1.750	0.001300
190	Recent Patents on Nanotechnology	345	1.750	0.000430
192	MACHINING SCIENCE AND TECHNOLOGY	1,014	1.716	0.000780
193	Frontiers of Materials Science	611	1.701	0.001020
194	EUROPEAN PHYSICAL JOURNAL E	4,177	1.686	0.004650
195	JOURNAL OF ELECTRONIC MATERIALS	11,282	1.676	0.012470
196	FIRE SAFETY JOURNAL	3,717	1.659	0.003610
197	Journal of Energetic Materials	706	1.649	0.000800
198	METALS AND MATERIALS INTERNATIONAL	2,127	1.647	0.003060
199	PHYSICA STATUS SOLIDI A-APPLICATIONS AND MATERIALS SCIENCE	12,024	1.606	0.010300
200	Nanomaterials and Nanotechnology	391	1.600	0.000760
201	Current Nanoscience	1,195	1.586	0.001220
202	AIP Advances	9,500	1.579	0.025440
203	JOURNAL OF CRYSTAL GROWTH	24,723	1.573	0.014640
204	PROCEEDINGS OF THE INSTITUTION OF MECHANICAL ENGINEERS PART L-JOURNAL OF MATERIALS-DESIGN AND APPLICATIONS	831	1.568	0.000900
205	KONA Powder and Particle Journal	491	1.553	0.000600
206	MATERIALS AT HIGH TEMPERATURES	967	1.545	0.001440
207	MICROSYSTEM TECHNOLOGIES-MICRO- AND NANOSYSTEMS-INFORMATION STORAGE AND PROCESSING SYSTEMS	3,976	1.513	0.004710
208	ACTA MECHANICA SOLIDA SINICA	1,110	1.508	0.001390

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
209	SOLDERING & SURFACE MOUNT TECHNOLOGY	346	1.500	0.000210
210	JOURNAL OF MATERIALS ENGINEERING AND PERFORMANCE	7,975	1.476	0.011200
210	PHYSICS AND CHEMISTRY OF MINERALS	3,558	1.476	0.002240
212	Materials Express	716	1.465	0.001170
213	MATERIALS AND CORROSION-WERKSTOFFE UND KORROSION	2,475	1.458	0.002330
214	ACI MATERIALS JOURNAL	5,560	1.453	0.002200
215	Materials Research Express	4,292	1.449	0.007910
216	JOURNAL OF LASER APPLICATIONS	1,503	1.443	0.001940
217	JOURNAL OF PHASE EQUILIBRIA AND DIFFUSION	2,693	1.421	0.001200
218	FIRE TECHNOLOGY	1,317	1.420	0.001870
219	FULLERENES NANOTUBES AND CARBON NANOSTRUCTURES	997	1.411	0.001170
220	Advances in Materials Science and Engineering	3,656	1.399	0.007510
221	CORROSION ENGINEERING SCIENCE AND TECHNOLOGY	862	1.393	0.001240
221	MATERIALE PLASTICE	1,023	1.393	0.000560
223	Functional Materials Letters	766	1.388	0.001020
224	NEW CARBON MATERIALS	995	1.387	0.000960
225	ADVANCES IN CEMENT RESEARCH	1,099	1.355	0.001060
226	JOURNAL OF ENGINEERING MATERIALS AND TECHNOLOGY-TRANSACTIONS OF THE ASME	3,162	1.354	0.000920
227	Journal of Advanced Concrete Technology	1,443	1.336	0.001010
228	NANO	1,062	1.293	0.001320
229	ACI STRUCTURAL JOURNAL	6,117	1.287	0.003530

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
230	BULLETIN OF MATERIALS SCIENCE	4,204	1.264	0.002750
231	ATOMIZATION AND SPRAYS	1,410	1.262	0.001330
232	Journal of Mechanics of Materials and Structures	792	1.239	0.000710
233	International Journal of Minerals Metallurgy and Materials	1,783	1.221	0.002720
234	JOURNAL OF ADHESION SCIENCE AND TECHNOLOGY	3,809	1.210	0.002680
234	Silicon	639	1.210	0.000660
236	Journal of Micro-Nanolithography MEMS and MOEMS	954	1.193	0.001310
237	FIRE AND MATERIALS	1,659	1.173	0.001300
238	Science of Advanced Materials	2,196	1.158	0.003140
239	JOURNAL OF FIRE SCIENCES	824	1.155	0.000590
240	Journal of the Society for Information Display	1,155	1.135	0.001120
241	PHILOSOPHICAL MAGAZINE LETTERS	1,888	1.117	0.001660
242	JOURNAL OF ELASTOMERS AND PLASTICS	527	1.112	0.000470
243	Green Materials	155	1.111	0.000320
244	Materials Research-Ibero-american Journal of Materials	3,438	1.104	0.004080
245	JOURNAL OF NANOSCIENCE AND NANOTECHNOLOGY	15,201	1.093	0.014160
246	CIRCUIT WORLD	258	1.042	0.000120
247	Korean Journal of Metals and Materials	509	0.992	0.000700
248	Chalcogenide Letters	793	0.977	0.000620
249	Micro & Nano Letters	1,499	0.975	0.001890
250	SOFT MATERIALS	418	0.973	0.000620
251	International Journal of Surface Science and Engineering	239	0.918	0.000220

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
251	MATERIALS SCIENCE-POLAND	968	0.918	0.000980
253	JOURNAL OF MICROWAVE POWER AND ELECTROMAGNETIC ENERGY	502	0.850	0.000190
254	MICROELECTRONICS INTERNATIONAL	188	0.840	0.000160
255	Journal of Magnetism	420	0.837	0.000650
256	COMBUSTION EXPLOSION AND SHOCK WAVES	2,009	0.825	0.001130
257	INDIAN JOURNAL OF ENGINEERING AND MATERIALS SCIENCES	902	0.794	0.000620
258	INORGANIC MATERIALS	3,201	0.771	0.001880
259	MATERIALS TRANSACTIONS	9,252	0.764	0.004320
260	Journal of Laser Micro Nanoengineering	455	0.733	0.000530
261	Materiali in Tehnologije	787	0.714	0.000980
262	Transactions of FAMENA	154	0.704	0.000170
263	Journal of Ovonic Research	207	0.701	0.000180
264	FERROELECTRICS	4,859	0.697	0.002550
265	INTERNATIONAL JOURNAL OF MATERIALS & PRODUCT TECHNOLOGY	448	0.674	0.000290
266	Journal of Superhard Materials	424	0.651	0.000300
267	Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures	1,654	0.638	0.001090
268	Materials Science-Medziagotyra	645	0.636	0.000580
269	Revista Romana de Materiale-Romanian Journal of Materials	221	0.628	0.000200
270	JOURNAL OF WUHAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY-MATERIALS SCIENCE EDITION	2,089	0.605	0.001670
271	KOVOVE MATERIALY-METALLIC MATERIALS	348	0.593	0.000300
272	Journal of Nano Research	472	0.589	0.000620


Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
273	JOURNAL OF OPTOELECTRONICS AND ADVANCED MATERIALS	2,214	0.588	0.000910
274	International Journal of Nanotechnology	507	0.578	0.000480
275	MOLECULAR CRYSTALS AND LIQUID CRYSTALS	4,445	0.559	0.001980
276	MATERIALWISSENSCHAFT UND WERKSTOFFTECHNIK	1,101	0.556	0.000760
277	MATERIALS SCIENCE	734	0.526	0.000330
278	Science and Technology of Energetic Materials	171	0.510	0.000120
279	Journal of Friction and Wear	568	0.489	0.000510
280	SENSORS AND MATERIALS	511	0.468	0.000640
281	Journal of Materials Education	141	0.455	0.000070
282	Optoelectronics and Advanced Materials-Rapid Communications	1,074	0.452	0.001010
283	HIGH TEMPERATURE MATERIALS AND PROCESSES	456	0.427	0.000530
284	JOURNAL OF NEW MATERIALS FOR ELECTROCHEMICAL SYSTEMS	408	0.400	0.000150
285	RARE METAL MATERIALS AND ENGINEERING	3,050	0.381	0.002440
286	INFORMACIJE MIDEM-JOURNAL OF MICROELECTRONICS ELECTRONIC COMPONENTS AND MATERIALS	107	0.356	0.000180
287	LASERS IN ENGINEERING	262	0.340	0.000220
288	Emerging Materials Research	138	0.330	0.000130
288	FIBRE CHEMISTRY	457	0.330	0.000120
290	ADVANCED MATERIALS & PROCESSES	503	0.290	0.000290
291	Materia-Rio de Janeiro	272	0.283	0.000270
292	SAMPE JOURNAL	182	0.167	0.000060
293	ZKG INTERNATIONAL	124	0.101	0.000090

Copyright © 2019 Clarivate Analytics



Article

Improving the Bond Strength of Radiographically Tagged Caries Lesions In Vitro [†]

Sophia Toelle ¹, Agnes Holtkamp ², Uwe Blunck ² , Sebastian Paris ² and Falk Schwendicke ^{1,*}

¹ Department of Oral Diagnostics, Digital Health and Health Services Research, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Aßmannshauer Str. 4-6, 14197 Berlin, Germany; sophia.toelle@charite.de

² Department of Operative and Preventive Dentistry, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Germany, Aßmannshauer Str. 4-6, 14197 Berlin, Germany; agnes.holtkamp@charite.de (A.H.); uwe.blunck@charite.de (U.B.); sebastian.paris@charite.de (S.P.)

* Correspondence: falk.schwendicke@charite.de; Tel.: +49-30-450-62556; Fax: +49-30-450-7562-556

[†] Short title: Bond strength of radiographically tagged caries.

Received: 23 July 2020; Accepted: 18 August 2020; Published: 21 August 2020



Abstract: After selective carious tissue removal, residual carious lesions remain radiographically detectable. Radiopaque tagging resolves the resulting diagnostic uncertainty but impedes bond strengths of adhesives to tagged dentin. We developed a protocol mitigating these detrimental effects. A 30%/50%/70% SnCl₂ solution was dissolved in distilled water or a 30%/50%/90% ethanol solution (E30/60/90) and applied to artificially induced dentin lesions. Tagging effects were radiographically evaluated using transversal wavelength-independent microradiography ($n = 6/\text{group}$). Groups with sufficient tagging effects at the lowest SnCl₂ concentrations were used to evaluate how tagging affected the microtensile bond strength of a universal adhesive (Scotchbond Universal) to sound and carious dentin ($n = 10/\text{group}$). Two different protocols for removing tagging material were tested: 15 s phosphoric acid etching and 5 s rotating brush application. Scanning/backscattered electron microscopy (SEM/BSE) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) were used to assess surfaces after tagging and removal. The most promising removal protocol was revalidated microradiographically. Tagging significantly increased the radiopacity, with consistent effects for 30% SnCl₂ dissolved in water or E30. Microscopically, tagged surfaces showed a thick carpet of SnCl₂, and tagging reduced bond strengths significantly on carious dentin but not on sound dentin ($p < 0.01$). On carious dentin, removal of tagging material using acid etching and rotating brush was microscopically confirmed. Acid etching also mitigated any bond strength reduction (median: 21.3 MPa; interquartile range: 10.8 MPa) compared with nontagged dentin (median: 17.4 MPa; interquartile range: 20.6 MPa). This was not the case for brushing (median: 13.2 MPa; interquartile range: 13.9 MPa). Acid etching minimally reduced the radiographic tagging effect ($p = 0.055$). Phosphoric acid etching reduces the detrimental bond-strength effects of tagging without significantly decreasing radiographic tagging effects when using a universal adhesive.

Keywords: bonding; caries; dental; diagnostics; radiography; residual caries

1. Introduction

For deeper carious lesions, selective carious tissue removal is recommended, which aims to avoid pulp exposure and pulpal complications and thus preserve pulp vitality and health [1,2]. In selective removal, carious tissue is intentionally left close to the pulp during the excavation process, while in the peripheral areas of the cavity, excavation is performed until firm or hard dentin remains, ensuring restoration longevity and a tight seal of the cavity [2]. Sealed carious lesions are inactivated by bacteria being deprived of dietary carbohydrates after depleting intracellular polysaccharide depots [3,4].

There is a growing body of evidence supporting selective removal [5], while admittedly the majority of studies have been conducted in the primary and not the permanent dentition [6,7].

One drawback of this strategy, though, is sealed dentin remaining detectable as radiolucency beneath the restoration [8]. The resulting diagnostic uncertainty might be why the majority of dentists worldwide have not accepted selective removal as standard yet [9]. Radiopaque tagging of carious dentin prior to the restoration placement has been suggested to overcome this uncertainty: tagged carious dentin was no longer detectable on radiographs, while tagging effects were shown to decrease in case the described inactivation of the lesion was not achieved [8].

For tagging, radiopaque substances like stannous chloride or fluoride have been suggested and employed in higher concentrations. These also seem to have antibacterial effects [10]. A key and notable limitation of this concept at present is that such high-concentration tagging was found to significantly decrease the bond strengths of dental adhesives to both carious and sound dentin (lowly concentrated stannous chloride has been found to not negatively affect bond strengths) [11]. Similar findings were reported for treatment of carious dentin using other metal ions, like silver diamine fluoride (SDF) [12]; for SDF, rinsing off or refreshing the surface mitigated these detrimental effects [13]. Resolving the issue of decreased bond strengths may allow implementing radiopaque tagging as a standard operative step after selective carious tissue removal and before restoring the cavity [10].

This study aimed to evaluate different strategies for improving bond strengths of a universal adhesive after tagging carious dentin. These strategies included optimization of the concentration and solvent of the tagging material to balance tagging against bond-strength effects, along with an application of different steps for cleaning the tagged dentin surface. We hypothesized that eventually, by using the developed protocol, there would be no significant difference in bond strength of a universal adhesive to both tagged and nontagged dentin surfaces.

2. Methods

2.1. Study Design

SnCl_2 was dissolved in different concentrations (30%, 50%, 70%) in different media, namely distilled water (Aqua destillata, AQ) and 30%, 60%, and 90% ethanol (E30/60/90), and applied to tag artificially induced dentin caries lesions. The rationale was the different solubility of metal ions in different solvents and solvents of different concentrations, as demonstrated before [8].

Tagging effects were radiographically evaluated using transversal wavelength-independent microradiography (T-WIM). Groups with sufficient tagging effects at the lowest SnCl_2 concentrations were used to evaluate how tagging affected the bond strength of adhesive restorations to sound and carious dentin when submitted to microtensile bond strength (μ -TBS) measurements. Two different protocols for removing bond-strength-detrimental tagging material from the dentin surface were tested: phosphoric acid etching and rotating brushing. Scanning and backscattered electron microscopy (SEM, BSE) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) were used to assess surfaces after different tagging and removal protocols. The tagging effects of the most promising removal protocol were eventually validated microradiographically once more, using T-WIM. The sample size for the different steps was not decided based on statistical assumptions; it was based on experience from the discussed prior studies in the field.

2.2. Tagging of Caries Lesions

Two hundred sound extracted human permanent molars were used for the study. Molars were obtained under an ethics-approved protocol (ethics committee of the Charité EA4/102/14) and informed consent. Four hundred dentin samples ($3 \times 2 \times 1$ mm) were cut from the molars (Band Saw EXAKT 300 CL, EXAKT Technologies, Norderstedt, Germany), exposing coronal dentin, which was subsequently polished up to 4000 grit (SiC paper, Struers, Willich, Germany). The cutting was stopped and polishing started when the coronal surface was free of any enamel remnants to ensure a sufficient dentin layer

(> 1 mm thickness) was left between the polished coronal surface and the pulpal area. It should be noted that, clinically, tagging would not necessarily be performed on only outer or middle coronal dentin; rather, it would be performed on the deepest dentin areas. This was not experimentally feasible, though.

Afterwards, samples were separated axially and prepared for T-WIM. To induce locally defined artificial carious lesions, half of the coronal surface was covered using nail varnish (Riva-De-Loop, Rossmann, Burgwedel, Germany). Lesions were then chemically generated in unprotected areas by storing samples in demineralizing solution at pH 5.3 and 37 °C under agitation using a validated protocol [14] for 9 weeks. The integrated mineral loss (ΔZ) at baseline was assessed using T-WIM (see below). Demineralized areas were air-dried for 5 s, and SnCl₂ (Sigma Aldrich, St. Louis, MI, USA) solutions were applied twice for 15 s with a microbrush. Any excess solution was removed using microbrushes. SnCl₂ was dissolved in different media (distilled water and ethanol) (J.T.Baker, Deventer, The Netherlands) in different concentrations (30%, 50%, 70%).

2.3. Transversal Wavelength-independent Microradiography

The radiographic effect of tagging ($\Delta\Delta Z$) was assessed using T-WIM [15] as previously described [8]. For T-WIM, 35 mm films (B/W positive, Fujifilm, Tokyo, Japan) were used, and microradiographs were assessed microscopically (Axioplan 60318, Zeiss, Oberkochen, Germany) and digitalized (CFW1312M, Scion, Frederick, MD, USA). $\Delta\Delta Z$ was measured using TMR 2000 (2.0.27.2, UMCG, Groningen, The Netherlands) and calculated as follows: $\Delta\Delta Z (\%) = -(\Delta Z_{\text{tagging}} - \Delta Z_{\text{baseline}}) \times \Delta Z^{-1}$. Positive values indicate a reduced radiolucency.

2.4. Bond Strength

To test bond strength, 40 of the extracted molars were first embedded in methacrylate resin (Technovit 4071, Heraeus Kulzer, Hanau, Germany). The occlusal surfaces of the molars were exposed and polished as described above. On the polished surface of 25 teeth, artificial lesions were again chemically induced [14] using acetic acid solution (pH 5.3, 37 °C) as described. Storage of the remaining samples was conducted in distilled water. Radiopaque materials were applied to a total of 22 carious teeth and 12 sound teeth. The rationale for using sound dentin as control was that tagging is likely to also affect non-carious areas, too, and it is relevant how such accidental tagging of sound surfaces affects bond strengths. Application was performed twice ($2 \times 20 \mu\text{L}$) using a microbrush for a total of 30 s, and then blotted dry using another microbrush. Three sound and three carious teeth were used as nontagged controls.

A universal adhesive system (Scotchbond Universal, 3M, St. Paul, MN, USA) was rubbed on all teeth for 20 s moving using an application tip, air-dried gently, and light-cured for 15 s. A resin composite (Ceram.X Spectra, Dentsply, Konstanz, Germany) was then placed according to the manufacturer's instructions. Composite was placed in increments until a total thickness of 6 mm was achieved. Light-curing was performed with an LED curing light (Valo, Ultradent, Salt Lake City, UT, USA) at an intensity of 1400 mW/cm² for 40 s from a distance of <1 mm.

After 24 h storage in distilled water at 37 °C, samples were sectioned using the Isomet 1000 (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) at low speed and under water-cooling, resulting in sticks with a rectangular cross-section (ca. 1 mm²). From each tooth, three sticks were randomly selected; the sample size per group was $n = 10$. For microtensile testing, sticks were attached to the test assembly using Tetric EvoFlow (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). No pretesting failures occurred. The tensile load was applied at a crosshead speed of 0.5 mm/min (Zwick, Ulm, Germany). The maximum force recorded before any fracture occurred was used to estimate the microtensile bond strength. Fragments were finally assessed under a stereomicroscope (Stemi, Zeiss) at 45× magnification in order to discriminate between different failure modes: (1) cohesive failure in dentin, (2) adhesive failure between adhesive system and dentin, (3) adhesive failure between adhesive system and composite, (4) mixed adhesive failure (failure modes 2 and 3), and (5) cohesive failure in composite.

2.5. Scanning and Back-scattered Electron Microscopy (SEM, BSE) and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)

Samples were air-dried for SEM and BSE or carbon-coated for EDS. SEM and EDS were performed using a CamScan MaXim microscope (CamScan, Cambridge, UK). A Bruker XFlash 6 30 detector was used, and the analyses were performed using the ESPRIT 2.0 software (Bruker Nano, Berlin, Germany). The acceleration voltage was 15 kV. BSE was performed on Phenom SEM at an acceleration voltage of 10 kV. The acquisition time for the mapping was 300 s.

2.6. Statistical Evaluation

Statistical analysis was performed using SPSS 20 (IBM, Armonk, NY, USA). Normal distribution was assessed using the Shapiro–Wilk test. Relative tagging effects on mineral loss ΔZ ($\Delta\Delta Z$ in %) were analyzed using generalized linear modeling and two-sided Mann–Whitney U-test. Positive $\Delta\Delta Z$ values indicate reduced translucency, i.e., effective tagging. Level of significance was set at $\alpha = 0.05$.

3. Results

Tagging significantly increased the radiopacity, and all groups except E60-30% and E90-30% showed significant tagging effects (Figure 1, $p < 0.05$). Overall, tagging effects were more pronounced in AQ and E30 than E60 and E90 ($p < 0.05$). There was a dose–response relationship for nearly all groups, with higher SnCl₂ concentration resulting in higher radiopacity. However, differences were not consistently significant, which is why further experiments focused on optimizing an application protocol for AQ and E30, both with 30% SnCl₂, were necessary.

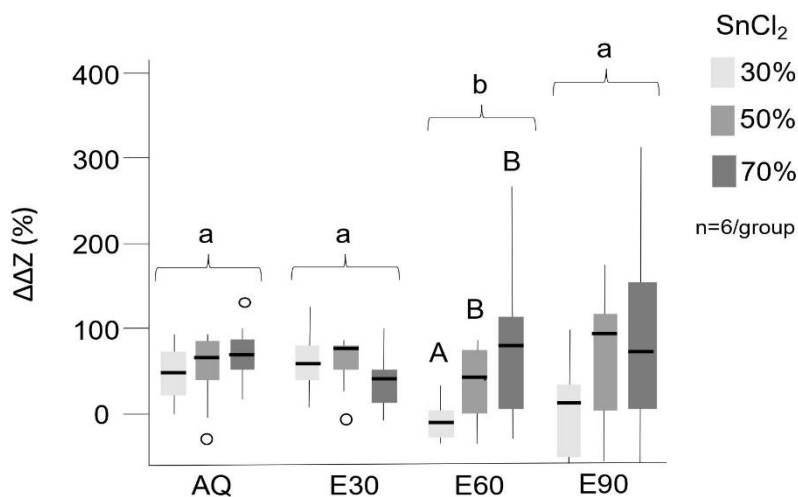


Figure 1. Mineral loss differences in % compared to untreated lesions. Positive values indicate reduced translucency and effective tagging. SnCl₂ (30%, 50%, 70%, indicated by different grey shades) was dissolved in distilled water (AQ) and 30%, 60%, and 90% ethanol (E30–90). Significant differences between tagging groups ($p < 0.05$) are indicated by different letters; upper case letters are used to indicate differences within the solutions while lower case letters indicate difference between the solutions. Box and line: interquartile range and median; whiskers: minimum/maximum; circles: outliers; n: sample size.

Tagging effects were also detectable via SEM (Figure 2) and BSE and EDS (Figure 3). Tagged surfaces showed a thick carpet of dense particles which were confirmed as SnCl_2 ; these particles were crystalline (e.g., Figure 2b) and were observed to be either homogeneously distributed (for AQ) or occurring in large insulae (for E30).

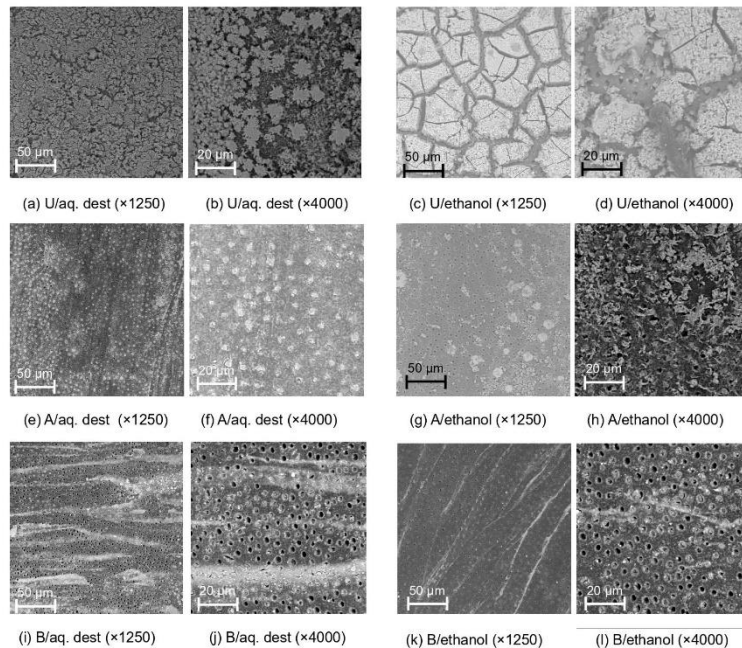


Figure 2. Scanning electron microscopy images of dentin tagged with 30% stannous chloride dissolved in distilled water (aq. dest.; a,b,e,f,i,j) or ethanol (c,d,g,h,k,l) without further removal (untreated, U; a–d), or removal using acid (A; e–h) or rotating brushes (B; i–l), at different magnifications.

Different removal protocols were tested, as described. Both protocols visibly reduced the microscopic presence of tagging material (Figure 2), with SnCl_2 particles remaining either within the tubules (for acid etching, e.g., Figure 3f,g) or in striae (for brushing removal, e.g., Figure 2i,k).

Bond strengths were significantly higher on sound than on carious dentin (Figure 4; $p < 0.05$ (Mann–Whitney)). Tagging reduced bond strengths significantly on carious dentin, but not on sound dentin, with significantly lower bond strength on sound dentin observed when E30 was used for tagging when compared with AQ ($p < 0.05$). Using phosphoric acid after tagging increased bond strengths, with acid etching leading to higher bond strengths on sound dentin compared with an untreated control, even on tagged surfaces ($p < 0.05$). On carious dentin, acid etching led to bond strength of AQ-tagged samples being not significantly different from those in untreated controls. Brushing did not lead to a significant bond strength increase in sound dentin, and it also did not mitigate the effects of tagging on carious dentin ($p < 0.01$). For all samples, adhesive failures between the adhesive system and dentin occurred (i.e., while there were variations in bond strengths, the failure mode did not differ between groups).

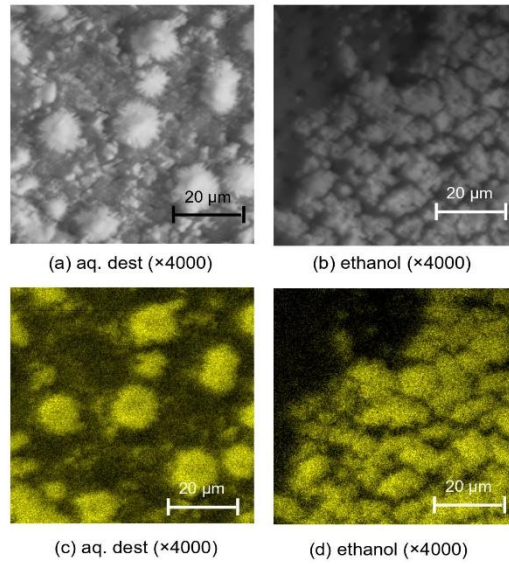


Figure 3. Backscattered SEM (BSE) and EDS analysis. BSE microscopy at 10 keV (a,b) and EDS (c,d) analysis of dentin tagged with stannous chloride dissolved in distilled water (aq. dest.) or ethanol. In BSE, brighter crystalline structures covering the dentin can be detected; in EDS, these plaques are confirmed as containing high concentrations of Sn (indicated by yellow color).

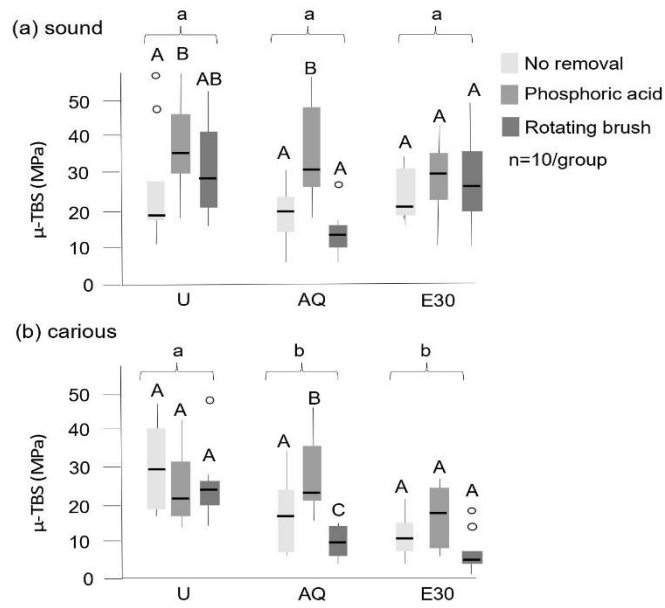


Figure 4. Microtensile bond strength (μ -TBS) of adhesive restorations on sound (a) and carious (b) dentin after different treatments (in MPa). Untreated sound and carious dentin (U), dentin tagged with

30% SnCl₂ dissolved in distilled water (AQ), and 30% ethanol (E30) are shown, with tagging material not being removed or being removed with phosphoric acid or a rotating brush (different grey values). Significant differences ($p < 0.05$) between groups and within groups are indicated by different lower- and uppercase letters, respectively. Box and line: interquartile range and median; whiskers: minimum/maximum; circles: outliers; n : sample size.

When acid-etched samples were assessed for their radiopacity (Figure 5), a minimal decrease in tagging effect was notable; the median (IQR) $\Delta\Delta Z$ compared with untreated controls was 73.2% (29.1%) in tagged and 51.6% (18.8%) in tagged and etched lesions ($p = 0.055$).

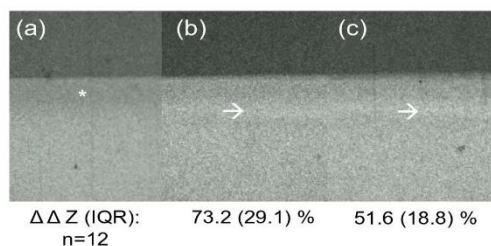


Figure 5. Transversal wavelength-independent microradiography (T-WIM) images of a demineralized and untreated lesion (a), a lesion tagged with 30% SnCl₂ dissolved in distilled water (b), and the same lesion after phosphoric acid etching (c). Mineral loss differences (median, interquartile range (IQR), in %) compared with untreated lesions are given. n : sample size. Asterisk: induced lesion (radiolucency). Arrows: tagging material (radiopacity).

4. Discussion

Selective carious tissue removal was found beneficial for maintaining pulp vitality in teeth with deeper carious lesions. The resulting radiolucency beneath the restoration, however, poses diagnostic uncertainties for dentists. Radiographic tagging was shown to positively mitigate this problem but detrimentally affect bond strengths to the tagged dentin. Within the present study, we demonstrated that a concentration of 30% of SnCl₂, dissolved in water or 30% ethanol, showed a reliable and sufficient tagging effect while limiting the reported impact on bond strength of the used universal adhesive. Nevertheless, bond strengths decreased by 30–60%, i.e., significantly and possibly clinically disadvantageously, when using a universal adhesive. However, subsequent phosphoric acid etching was able to resolve this issue, without significant decreases in tagging effects. We therefore accept our hypothesis.

This study has a number of strengths and limitations. First, in line with previous work in this field [8,10], we relied on established *in vitro* test methodologies and triangulated our findings from one test method (e.g., μ -TBS) with those from others (e.g., SEM, EDS). Further assessment methods like interfacial SEM or TEM may be used to elucidate the described effects in more detail. Second, we employed easy-to-apply protocols to optimize bond strengths; translating these protocols into clinical application will likely be unproblematic. Third, as a limitation, we worked with sound dentin and artificial carious lesions in a modeling system. However, both the lesion induction protocol as well as the model were validated in previous studies. We also used only one specific universal adhesive system, while many more are available. Our findings might not fully translate to all universal adhesive systems or to other (non-universal) adhesives, as discussed below. Fourth, we only used one specific tagging material, SnCl₂, while others might be available. This material, however, was used in previous studies and found to be beneficial in a range of aspects (see below) [8,10]. Last, we tested tagging effects using T-WIM, and not in clinical radiographic applications. However, we have demonstrated translucency changes detected in T-WIM to correlate with those detected by

conventional radiography [8] and to match tagging effects of natural lesions (and not only artificial lesions, like in the present study). Notably, it is unclear if the differences found in radiolucency between etched and non-etched tagging effects will be clinically relevant or not (even if they were not significant in our study). Furthermore, the present study did not assess the safety of the application, while in another evaluation (unpublished), we evaluated the pulpal pH changes induced by tagging, for instance, in an *in vitro* pulp model, without finding significant impacts. Further related issues like possible cell toxicity should be evaluated.

A range of aspects need to be discussed. In our evaluation, AQ showed tagging effects similar to those of E30 without relevant differences between SnCl₂ concentrations. In contrast, dissolving SnCl₂ in 60% or 90% ethanol resulted in less reproducible tagging effects, and lower tagging when employing 30% SnCl₂, than in AQ and E30. This is likely due to the inferior solubility of SnCl₂ in high ethanol concentrations, the result being an inhomogeneous, clustered precipitation of SnCl₂ on dentin and hence, reduced tagging effects. These presumed segregation effects were confirmed when dentin surfaces were evaluated using SEM and BSE. In all groups, we observed SnCl₂ crystal precipitation. However, in ethanol, these precipitations were less homogeneously distributed, mainly in islands or striae of material.

These precipitations are the reason for the impeded bond strengths of dental adhesives. On carious dentin, we observed mean bond strength reductions of 30–60% when compared with nontagged surfaces. Tagging did not induce such reductions on sound dentin, indicating that significant precipitation may not occur there. The applied removal strategies had notable effects on the bond strengths. On sound nontagged dentin, phosphoric acid etching increased bond strengths, likely by removing the smear layer (resulting from sample polishing) and opening up the collagen network, thereby improving the formation of a hybrid layer as well as the interaction between the universal adhesive's 10-MDP and the exposed dentin. This positive effect of etching was not noted in carious nontagged dentin, where the carious attack has likely removed the smear layer. On sound tagged surfaces, we found acid etching to again improve bond strengths to “super-normal” levels and to reinstate the bond strengths to those found in carious untagged dentin. This is relevant, as in a previous study, we did not find etching to have such effect when applying a conventional etch-and-rinse adhesive (in this case, OptiBond FL) afterwards [10]. We ascribe this differential effect to the presence of 10-MDP in the universal adhesive, with the positive effects of 10-MDP only being effective when removing the precipitates and allowing chemical interaction with the dentin surface. Using a rotating brush did not have such beneficial effects on sound or carious, tagged or untagged surfaces. We attribute this to the fact that the brush does not remove the smear layer or any precipitates, but rather redistributes them in “streets” of the material, following the rotating movement (see Figure 3).

Consequently, we employed acid etching to remove precipitations and reinstate bond strengths and re-evaluated the resulting tagging effects. We found that phosphoric acid etching did not significantly decrease tagging effects. Notably, and as mentioned, the absence of statistical significance should not be taken as indicative of a lack of relevance, as it might also be grounded in the limited statistical power. Further experiments using conventional radiographic assessments are warranted.

The developed protocols are easy to apply and likely not time-consuming. Selective phosphoric acid etching of enamel is often recommended even when using universal adhesives (such as the one we used) in self-etching mode to obtain ideal bond strengths on enamel [16]. Our protocol suggests combining an etch-and-rinse approach after tagging to optimize the strength of bonds to both enamel and dentin. A range of questions, however, remain: First, the pH of the used tagging solutions has been found to be low [8], and possible detrimental effects when applied onto pulpo-proximal dentin should be explored (as discussed, no relevant pH decreases were observed in a modeling system). Second, we did not test the differential effect of tagging lesions of different depths. This, however, was done in a previous study [10], and it is also likely that some tagging effect will be exerted in deeper lesions by the used tagging solutions. Given the high concentration of the tagging material, even tagging outer carious dentin layers has been found to allow the masking of deeper lesions.

Third, the longevity of tagging has not been fully explored. A previous study, however, tried to wash out tagging material from carious dentin using thermocycling and failed when the carious lesion remained arrested (i.e., the pH in dentin did not fall below a certain threshold) [8]. Clinical observations over long-term periods may be required. These studies should also evaluate if tagging (using the outlined protocol) really reduces the rate of clinicians who unnecessarily intervene on carious lesions sealed after selective removal, as demonstrated before. Last, the effect on bacteria may be tested in more detail. This is especially relevant given that sealing of lesions is thought to deprive cariogenic bacteria of nutrition, while asaccarolytic bacteria have been argued to remain viable, leading to possible pulp inflammation [17]. In that direction, the effects of tagging on pulpal cells should also be assessed, as discussed.

5. Conclusions

When using the universal adhesive Scotchbond Universal, phosphoric acid etching of radiopaque-tagged dentin mitigated the detrimental bond-strength effects of tagging while preserving the beneficial radiographic effects. A separate dentin etching step should be recommended after tagging carious lesions.

Author Contributions: S.T. developed the study, performed the experiments, analyzed and interpreted the data, and drafted and approved the manuscript. A.H. performed parts of the experiments, analyzed and interpreted the data, and read and approved the manuscript. U.B. and S.P. analyzed and interpreted the data and read and approved the manuscript. F.S. developed the study, analyzed and interpreted the data, and drafted the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: F.S. received a grant from the German Research Foundation for evaluating the antibacterial effects of radiopaque tagging on residual lesions (DFG: SCHW 1766/2-1, 2-2).

Acknowledgments: We thank Paul Zaslansky, Department of Operative and Preventive Dentistry, for his assistance with SEM and EDS analyses. Thanks to Wolf-Dieter Müller, Department of Prosthodontics, for supporting μ -TBS testing. F.S. received a grant from the German Research Foundation for evaluating the antibacterial effects of radiopaque tagging on residual lesions (DFG: SCHW 1766/2-1, 2-2). We acknowledge support from the German Research Foundation (DFG) and the Open Access Publication Fund of Charité—Universitätsmedizin Berlin.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Schwendicke, F.; Frencken, J.E.; Bjørndal, L.; Maltz, M.; Manton, D.J.; Ricketts, D.; Van Landuyt, K.; Banerjee, A.; Campus, G.; Domejean, S.; et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Carious Tissue Removal. *Adv. Dent. Res.* **2016**, *28*, 58–67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Innes, N.P.; Frencken, J.E.; Bjørndal, L.; Maltz, M.; Manton, D.J.; Ricketts, D.; Van Landuyt, K.; Banerjee, A.; Campus, G.; Domejean, S.; et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Terminology. *Adv. Dent. Res.* **2016**, *28*, 49–57. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ganas, P.; Schwendicke, F. Effect of reduced nutritional supply on acido- and cariogenicity and survival of cariogenic bacteria in vitro. *J. Oral Microbiol.* **2019**, *11*, 1605788. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Marggraf, T.; Ganas, P.; Paris, S.; Schwendicke, F. Bacterial reduction in sealed lesions depends on initial bacterial loads, sealing periods and restorative treatment in vitro. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 3767. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ricketts, D.; Innes, N.; Schwendicke, F. Selective Removal of Carious Tissue. *Monogr. Oral Sci.* **2018**, *27*, 82–91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Maltz, M.; Koppe, B.; Jardim, J.J.; Alves, L.S.; de Paula, L.M.; Yamaguti, P.M.; Almeida, J.C.F.; Moura, M.S.; Mestrinho, H.D. Partial caries removal in deep caries lesions: A 5-year multicenter randomized controlled trial. *Clin. Oral Investig.* **2017**, *22*, 1337–1343. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Labib, M.E.; Hassanein, O.E.; Moussa, M.; Yassen, A.; Schwendicke, F. Selective versus stepwise removal of deep carious lesions in permanent teeth: A randomised controlled trial from Egypt—an interim analysis. *BMJ Open* **2019**, *9*, e030957. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Schwendicke, F.; Meyer-Lueckel, H.; Schulz, M.; Dörfer, C.E.; Paris, S. Radiopaque tagging masks caries lesions following incomplete excavation in vitro. *J. Dent. Res.* **2014**, *93*, 565–750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

9. Innes, N.; Schwendicke, F. Dentists' Thresholds for Restorative Intervention in Carious Lesions: Systematic Review and Meta-analysis. *J. Dent. Res.* **2017**, *96*, 501–508. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Umwali, A.; Askar, H.; Paris, S.; Schwendicke, F. Radiographic, antibacterial and bond-strength effects of radiopaque caries tagging. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 27319. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Peutzfeldt, A.; Koch, T.; Ganss, C.; Flury, S.; Lussi, A. Effect of tin–chloride pretreatment on bond strength of two adhesive systems to dentin. *Clin. Oral Investig.* **2014**, *18*, 535–541. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Jiang, M.; Mei, M.L.; Wong, M.C.M.; Chu, C.H.; Lo, E.C.M. Effect of silver diamine fluoride solution application on the bond strength of dentine to adhesives and to glass ionomer cements: A systematic review. *BMC Oral Health* **2020**, *20*, 40. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Lutgen, P.; Chan, D.; Sadr, A. Effects of silver diamine fluoride on bond strength of adhesives to sound dentin. *Dent. Mater. J.* **2018**, *37*, 1003–1009. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Schwendicke, F.; Eggers, K.; Meyer-Lueckel, H.; Dörfer, C.; Kovalev, A.; Gorb, S.; Paris, S. In vitro Induction of Residual Caries Lesions in Dentin: Comparative Mineral Loss and Nano-Hardness Analysis. *Caries Res.* **2015**, *49*, 259–265. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Thomas, R.Z.; Ruben, J.L.; de Vries, J.; ten Bosch, J.J.; Huysmans, M.C.D.N.J.M. Transversal Wavelength-Independent Microradiography, a Method for Monitoring Caries Lesions over Time, Validated with Transversal Microradiography. *Caries Res.* **2006**, *40*, 281–291. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Cuevas-Suárez, C.E.; da Rosa, W.L.O.; Lund, R.G.; da Silva, A.F.; Piva, E. Bonding Performance of Universal Adhesives: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Adhes. Dent.* **2019**, *21*, 7–26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Ricucci, D.; Siqueira, J.F., Jr.; Rôças, I.N.; Lipski, M.; Shiban, A.; Tay, F.R. Pulp and dentine responses to selective caries excavation: A histological and histobacteriological human study. *J. Dent.* **2020**, *100*, 103430. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

14 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

15 Publikationsliste

Publikation 1:

Toelle, S., Holtkamp, A., Blunck, U., Paris, S., & Schwendicke, F. (2020). Improving the Bond Strength of Radiographically Tagged Caries Lesions In Vitro. *Materials (Basel, Switzerland)*, *13*(17), 3702. <https://doi.org/10.3390/ma13173702>
Impact Factor: 2,972

16 Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Falk Schwendicke danke ich für die Überlassung des Themas und für die hervorragende und schnelle Kommunikation.

Für viele ergiebige Gespräche, Anregungen und praktische Hilfestellung danke ich sehr Herrn Dr. Uwe Blunck, Herrn Prof. Wolf-Dieter Müller und Herrn Dr. Paul Zaslansky.

Ebenso gilt mein herzlicher Dank Frau Carola Schweynoch und insbesondere Herrn Rainer Toll, sie standen mir bei allen Laborarbeiten mit sehr gutem Rat zur Seite.

Ich danke Herrn Dr. Haitham Askar und Frau Agnes Wittemeier für ihre Unterstützung und den kollegialen Austausch.

Danke an meine Familie, die mir das Studium der Zahnmedizin ermöglichte und mir immerzu unterstützend und liebevoll zur Seite stand.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Mutter, die immer das Beste für meine Geschwister und mich im Sinn hat und auch während des Studiums jederzeit bedingungslosen Beistand bot.

Meinem Partner Dominik danke ich für die stete Unterstützung, Geduld und den großen Einsatz den er jederzeit zu geben bereit war.