

Aus dem Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Charakterisierung von verfahrenstechnischen Kontaminationen  
auf Hybridabutments nach verschiedenen Reinigungs- und  
Desinfektionsverfahren. Eine spektroskopische Untersuchung  
mit Bildanalyse durch überwachtetes maschinelles Lernen.

Characterisation of procedural contamination on hybrid abut-  
ments after different cleaning and disinfection procedures. A  
spectroscopic study with image analysis by supervised machine  
learning.

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Paul Felix Hofmann

Erstbetreuung: Prof. Dr. Florian Beuer

Datum der Promotion: 30.06.2024



## Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis .....	iii
Abbildungsverzeichnis .....	iv
Abkürzungsverzeichnis .....	v
Zusammenfassung .....	1
1 Einleitung .....	4
1.1 Charakterisierung zweiteiliger Zirkonoxidabutments .....	4
1.2 Derzeitiger Hygienestandard für individualisierte Abutments .....	5
1.3 Aufbereitung von Abutments durch Plasmabehandlung .....	6
1.4 Implantat-Abutment-Interface .....	7
1.5 Problematik .....	8
1.6 Fragestellung .....	9
2 Methodik .....	10
2.1 Probenvorbereitung .....	10
2.2 Reinigungs- und Desinfektionsmethoden .....	12
2.3 Bildgebung (REM) .....	15
2.4 Semiquantitative chemische Oberflächenanalyse (EDX) .....	18
2.5 Bilddatenverarbeitung und -analyse .....	19
2.6 Bildsegmentierung durch überwachtes maschinelles Lernen (ML) und Schwellenwertbildung (SW) .....	19
2.7 Statistische Auswertung .....	21
3 Ergebnisse .....	22
3.1 Quantitativer Nachweis durch überwachtes maschinelles Lernen .....	22
3.2 Quantitativer Nachweis basierend auf Schwellenwertbildung .....	25
3.3 Messmethodenvergleich .....	27
3.4 EDX-Analyse .....	29
4 Diskussion .....	31

---

4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	31
4.2	Interpretation der Ergebnisse.....	32
4.2.1	Bildgebung und -analyse.....	32
4.2.2	Reinigungs- und Desinfektionsverfahren .....	32
4.2.3	Plasmabehandlung .....	34
4.2.4	Der Einfluss von Aufbereitungsverfahren auf die Stabilität des Klebeverbundes zweiteiliger Abutments .....	35
4.3	Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand .....	37
4.3.1	Quantitativer Nachweis verfahrenstechnischer Kontaminationen .....	37
4.3.2	Semiquantitative chemische Oberflächenanalyse (EDX) .....	38
4.4	Stärken und Schwächen der Studie.....	39
4.5	Implikationen für Praxis und zukünftige Forschung.....	41
5	Schlussfolgerungen.....	43
	Literaturverzeichnis .....	44
	Eidesstattliche Versicherung .....	50
	Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen.....	51
	Druckexemplar der Publikation.....	52
	Lebenslauf.....	70
	Komplette Publikationsliste.....	72
	Danksagung .....	73

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Materialien, Zusammensetzung, Hersteller, Artikel- und Lot-Nummern.....	14
Tabelle 2: Deskriptive Statistik Messmethodenvergleich in Prozent.....	23
Tabelle 3: Statistische Analyse des Einflusses der Reinigungsmethode auf die Reinigungswirksamkeit für Messmethode ML .....	24
Tabelle 4: Statistische Analyse des Einflusses der Reinigungsmethode auf die Reinigungswirksamkeit für Messmethode SW.....	26
Tabelle 5: Deskriptive Zusammenfassung der EDX-Analysen .....	29

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: CAD-Konstruktion des Zirkonoxid-Hybridanteils.....	10
Abbildung 2: Studiendesign .....	11
Abbildung 3: Plasmabehandlung in einer Niederdruck-Plasmaanlage .....	13
Abbildung 4: CAD/CAM-Hybridabutment.....	16
Abbildung 5: Arbeitsabläufe für die Messmethoden ML und SW .....	17
Abbildung 6: Klassifizierung und Segmentierung durch maschinelles Lernen.....	20
Abbildung 7: Box-Plot-Diagramm für Messmethode ML.....	22
Abbildung 8: Box-Plot Diagramm für Messmethode SW .....	25
Abbildung 9: Bland-Altman-Diagramm .....	28
Abbildung 10: Aufsicht exemplarischer Klebefugen aus allen Reinigungsgruppen .....	36
Abbildung 11: Exemplarische EDX-Analyseergebnisse .....	39

## Abkürzungsverzeichnis

AIM .....	<i>Automated Image Mapping</i>
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .....	<i>Aluminiumoxid</i>
APA .....	<i>Airborne-Particle Abrasion</i>
at. % .....	<i>Atomprozent</i>
BSE-Detektor.....	<i>Back-scattered Electron Detector</i>
CAD .....	<i>Computer-Aided Design</i>
CAM .....	<i>Computer-Aided Manufacture</i>
CNN.....	<i>Convolutional Neural Networks</i>
DAHZ.....	<i>Deutscher Arbeitskreis für Hygiene in der Zahnmedizin</i>
EDX .....	<i>Energiedispersive Röntgenspektroskopie</i>
FDI.....	<i>World Dental Federation</i>
FOV .....	<i>Field of view</i>
GUI .....	<i>Graphical user interface</i>
HDF5 .....	<i>Hierarchical Data Format</i>
IQA .....	<i>Interquartilsabstand</i>
KI.....	<i>Künstliche Intelligenz</i>
LoA .....	<i>Limits of Agreement</i>
MDR .....	<i>Medical Device Regulation</i>
OOB .....	<i>Out-of-Bag-Fehler</i>
PCCE .....	<i>PC-Steuerung über Microsoft Windows CE</i>
Ra .....	<i>Mittenrauwert</i>
RCT .....	<i>randomisierte kontrollierte Studie</i>
REM .....	<i>Rasterelektronenmikroskop</i>
RF.....	<i>Random Forest</i>
ROIs .....	<i>Regions-of-Interest</i>
SDD .....	<i>Silizium-Drift-Detektor</i>
SNR.....	<i>Signal-Rausch-Verhältnis</i>
TOA.....	<i>Take-off angle</i>
Z-Zahl .....	<i>Zustandszahl</i>

## Zusammenfassung

**Hintergrund:** Als Medizinprodukte unterliegen Implantatabutments einem risikoadaptierten Hygienemanagement. Abutments sollten vor der Patientenversorgung einem validierten Aufbereitungsverfahren zugeordnet werden, da ihre Oberflächen während des Herstellungsprozesses labortechnisch kontaminiert werden können. Jedoch ist die Wirksamkeit von verschiedenen Reinigungs- und Desinfektionsverfahren noch nicht ausreichend wissenschaftlich untersucht worden. Zudem fehlt es an einem ausgereiften Verfahren zur Beurteilung der Dekontamination. **Zielsetzung:** Ziel dieser Studie war es, den Einfluss verschiedener Reinigungsverfahren auf den Kontaminationsgrad von Zirkonoxidabutments zu ermitteln. Zu diesem Zweck wurden in dieser Studie neue Messmethoden entwickelt. **Materialien und Methoden:** In einer *in vitro* Studie wurden 49 zweiteilige CAD/CAM-Zirkonoxidabutments in sieben Gruppen aufgeteilt. Fünf Gruppen erhielten folgende Hygieneregime: Dreistufige Ultraschallreinigung mit zwei verschiedenen Protokollen (CP und FP), einstufige Ultraschallreinigung (UD), Wasserdampfreinigung (SC) und Argon-Sauerstoff-Plasmabehandlung (PL). Eine weitere Gruppe wurde deutschlandweit in Dentallabors separat zusammengesetzt und einem unbekanntem Reinigungsverfahren unterzogen (LA). Eine andere Gruppe blieb ungereinigt (NC) und diente als Kontrollgruppe. Alle Proben wurden mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) auf Kontaminationen untersucht. Die Kontaminationsdetektion erfolgt durch maschinelles Lernen (ML) und Schwellenwertbildung (SW), der Kontaminationsgrad wurde halbautomatisiert quantifiziert. Zusätzlich wurden Kontaminationen durch energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) in ihrer chemischen Zusammensetzung analysiert. Die Daten wurden mithilfe nichtparametrischer Tests (Kruskal-Wallis-Test, Dunn-Test) statistisch ausgewertet, ferner wurde ein Messmethodenvergleich (SW, ML) durchgeführt (Bland-Altman-Diagramm, Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test). **Ergebnisse:** Es zeigten sich signifikante reinigungsspezifische Unterschiede ( $p \leq 0,01$ ). Die Gruppen FP-NC/LA wiesen den größten Unterschied im Kontaminationsgrad auf, gefolgt von CP-LA/NC und UD-LA/NC für SW und CP-LA/NC und PL-LA/NC für ML ( $p \leq 0,05$ ). Im Methodenvergleich wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Prozentsätzen von ML (Median = 0,008) und SW (Median = 0,012) gemessen ( $p = 0,22$ ). Das Bland-Altman-Diagramm wies einen mittleren Unterschied von -0,006 % auf mit erhöhten Messwerten für ML ab  $> 0,03$  %. EDX zeigte bei allen Gruppen eine organische Kontamination; Spuren von Aluminium, Silicium und

Calcium konnten nachgewiesen werden. **Zusammenfassung:** Die Kombination aus Ultraschallreinigung und chemischen Desinfektionsmitteln oder Plasmabehandlung erzielte die höchste Oberflächenreinheit; kein Reinigungsverfahren konnte die Kontaminationen vollständig entfernen. KI-gestützte Kontaminationsdetektion sollte in zukünftigen Studien weiter validiert werden.

## Abstract

**Background:** As medical devices, implant abutments are subject to risk-adapted hygiene management. Abutments should be assigned to a validated cleaning procedure before patient care, as their surfaces can become contaminated during the manufacturing process in the laboratory. However, the effectiveness of the various cleaning and disinfection procedures has not been sufficiently scientifically investigated yet. In addition, there needs to be a mature method for assessing surface cleanliness. **Objective:** This study aimed to determine the influence of different cleaning procedures on the quantitative degree of contamination of zirconia abutments. Therefore, new measurement methods were developed in this study. **Materials and methods:** In an *in vitro* study, forty-nine two-piece CAD/CAM zirconia abutments were divided into seven groups. Five groups received the following hygiene regimes: three-step ultrasonic cleaning with two different protocols (CP and FP), one-step ultrasonic cleaning (UD), steam (SC) and argon-oxygen plasma treatment (PL). Another group was assembled separately in dental laboratories and subjected to an unknown hygiene regime (LA). The last group remained uncleaned (NC) and served as a control group. All samples were examined for contamination by scanning electron microscopy (SEM). Contaminant detection was performed by machine learning (ML) and thresholding (SW), and the degree of contamination was subsequently quantified in a semi-automated workflow. In addition, contaminants were analysed by energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) for their chemical composition. The data were statistically evaluated using non-parametric tests (Kruskal-Wallis test, Dunn test), and a comparison of measurement methods (SW, ML) was carried out (Bland-Altman plot, Wilcoxon sign-rank test). **Results:** Significant cleaning-specific differences were found ( $p \leq 0.01$ ). The FP-NC/LA groups showed the most significant contamination area difference for both measurement methods (ML, SW), followed by CP-LA/NC and UD-LA/NC for SW and CP-LA/NC and PL-LA/NC for ML ( $p \leq 0.05$ ). In the measurement method comparison, no significant difference was measured between the percentages of ML (median = 0.008)

and SW (median = 0.012) ( $p = 0.22$ ). The Bland-Altman plot showed a mean difference of -0.006% with increased values for ML from an area percentage  $> 0.03\%$ . EDX showed organic contamination in all groups; traces of aluminium, silicon and calcium were detected. **Conclusion:** The combination of ultrasonic cleaning and disinfectants or plasma treatment achieved the highest surface cleanliness; however, no method could eradicate the contaminations.

# 1 Einleitung

## 1.1 Charakterisierung zweiteiliger Zirkonoxidabutments

Heutzutage können dentale Lückensituationen im Front- und Seitenzahnbereich erfolgreich durch implantatprothetische Versorgungen rehabilitiert werden. Im Allgemeinen werden Lückensituationen in einem zweizeitigen Vorgehen geschlossen. Zuerst erfolgt die Insertion eines enossal verankerten Implantatkörpers mit periimplantärem Weich- und Hartgewebsmanagement sowie eine mehrmonatige Einheilphase. Nach der Freilegungsoperation wird in Vorbereitung zur Aufnahme der klinischen Krone eine Implantat-Abutment-Verbindung hergestellt. Ein vom Implantatkörper getrenntes Aufbauteil (Abutment) wird durch Verschraubung an das eingehheilte Zahnimplantat angeschlossen. Ein wesentliches Kriterium für dauerhaft inserierte Biomaterialien im ständigen Kontakt mit der oralen Mukosa ist die Biokompatibilität. Titan und Zirkonoxid zeigen eine gute biologische Verträglichkeit als Abutmentwerkstoffe (1, 2). Auf der Patientenebene sind ästhetisch vorhersagbare Ergebnisse in sensiblen Versorgungsgebieten (Frontzahn- und Prämolarenregion) ein weiteres wichtiges Kriterium für die Auswahl des Abutmentmaterials. Kompromittierende gräuliche Verfärbungen des periimplantären Weichgewebes können bei dünnerem gingivalem Biotyp durch die bessere Farbanpassung von keramischen Abutments gegenüber metallischen Abutments (Titan) weitestgehend vermieden werden (3, 4). Dabei verbessern insbesondere monolithische Versorgungen aus voreingefärbtem Zirkonoxid die gingivale Ästhetik durch zahnfarbene Maskierung des darunter liegenden Titanimplantats (5).

Die Einführung von computergestützter Konstruktion (CAD) und computergestützter Fertigung (CAM) veränderte in den letzten zwei Dekaden die Herstellungsprozesse in den zahntechnischen Laboratorien; zusätzlich entstanden spezialisierte Fertigungszentren. Heutzutage kann implantatgetragener Zahnersatz aus Zirkonoxidblöcken auf Desktop-basierten Systemen individuell gestaltet (CAD) und maschinell bearbeitet (CAM) werden (6). Oxidkeramiken stehen heute im Mittelpunkt des Interesses, da sie neben ihrer Biokompatibilität und Ästhetik auch gute mechanische Eigenschaften aufweisen: Eine randomisierte kontrollierte Studie (RCT) berichtete über eine 100-prozentige Überlebensrate für Zirkonoxidabutments im Seitenzahnbereich nach 5-jähriger Beobachtungszeit - weder eine Abutmentfraktur, noch ein Abutmentverlust konnten festgestellt werden (7). Zwei

Studien bestätigten dies auch nach bis zu 4-jähriger Beobachtungszeit für Einzelzahnrekonstruktionen mit Zirkonoxidabutments im Front- und Prämolarenbereich (8, 9). Mit Blick auf den Einfluss der Verbindungsart auf die Stabilität des Zirkonoxidabutments zeigten diejenigen mit metallischer Unterstützung gegenüber vollkeramischen Abutments eine höhere Bruchfestigkeit, ein verringertes Spaltmaß und weniger Abnutzung und Schäden an der Implantat-Abutment-Interface (10-12). Dies bildete den Ausgangspunkt für weitere Forschung zum Einsatz von zweiteiligen Implantatabutments. Mehrere Jahre klinischer Untersuchungen und *in vitro* Daten zur Verbundstabilität haben gezeigt, dass auch das hybride Konstruktionsprinzip voraussagbare Ergebnisse liefert (10, 13, 14). Für den implantatprothetischen Lückenschluss stellt das zweiteilige CAD/CAM-Hybridabutment aus Zirkonoxid in Kombination mit einer konfektionierten Titanklebebasis derzeit die erste Wahl dar - insbesondere in der ästhetischen Zone.

## 1.2 Derzeitiger Hygienestandard für individualisierte Abutments

Prothetische Komponenten werden durch ihre Zweckbestimmung durch den Hersteller als Medizinprodukte ausgewiesen (15). Insbesondere implantatprothetische Aufbauten werden als semikritische (Kontakt mit der Schleimhaut) oder kritische (Schleimhautpenetration mit Kontakt zu Blut oder Wunden) Medizinprodukte eingestuft (16). Die MedizinprodukteEinstufung bildet die Basis für ein risikoadaptiertes Hygienemanagement bei Implantataufbauten (Reinigung, Desinfektion, ggf. Sterilisation). Hierzu stehen dem Zahnarzt heute verschiedene Strategien mit entsprechenden Substanzen und Hilfsmitteln zur Verfügung (17-23). Die Reinigungswirksamkeit von Reinigungs-, Desinfektions- und Sterilisationsverfahren sowie Effekte auf die Oberflächentopografie sind bei implantatprothetischen Komponenten jedoch noch nicht hinreichend wissenschaftlich untersucht worden (24).

Für eine korrekte Aufbereitung bewertet der Behandler das Medizinprodukt (z. B. Implantatabutment) nach Risikostufen – zusätzlich müssen dabei die Herstellervorgaben Berücksichtigung finden (DIN EN ISO 17664). Bestehen beim Behandler Zweifel an der Einstufung, muss das Abutment der höheren (kritischeren) Risikostufe zugeordnet werden (16). Zweiteilige Zirkonoxidabutments werden für die späte implantatprothetische Rehabilitation nach abgeschlossener Wundheilung und Weichgewebsausformung verwendet (semikritisches Medizinprodukt). Ein geeignetes Verfahren zur Aufbereitung stellt die Reinigung und Desinfektion des Abutments dar. Unter bestimmten Bedingungen kann die

Reinigungswirksamkeit durch den zusätzlichen Einsatz von Reinigungslösungen im Ultraschallbad verbessert werden (16, 25, 26). Bei der Desinfektion ist darauf zu achten, dass die Verfahren nachweislich bakterizid (einschließlich Mykobakterien), fungizid und viruzid sind und der europäischen Norm für chemische Desinfektionsmittel entsprechen (DIN EN 14885). Insgesamt muss die Wirksamkeit der Verfahren nachvollziehbar gewährleistet sein und darf die Gesundheit des Patienten nicht gefährden (MDR) (15, 16). Im Falle einer implantatprothetischen Sofortversorgung ist das Abutment jedoch als kritisch einzustufen (Schleimhautpenetration mit Kontakt zu Blut). Nach der Endreinigung und Desinfektion muss das Abutment geeignet verpackt werden und einer Sterilisation zugeführt werden.

Bisherige *in vitro* Studien haben gezeigt, dass Implantatabutments während des Herstellungsprozesses verschiedenen Kontaminationen ausgesetzt sind. Die Kontaminationen könnten durch die verfahrenstechnische Oberflächenbehandlung sowie durch Transport und Lagerung (Verpackung) verursacht worden sein. Eine vollständige Dekontamination durch geeignete Aufbereitungsverfahren ist bisher noch nicht erzielt worden (17, 19, 24, 27, 28).

### **1.3 Aufbereitung von Abutments durch Plasmabehandlung**

Derzeit stellt die Aufbereitung von Implantataufbauten durch eine Plasmabehandlung kein validiertes Sterilisationsverfahren dar (29). Dennoch ist eine Oberflächenaufbereitung von metallischen und keramischen Biomaterialien als auch Implantataufbauten (Titan, Zirkonoxid) durch die Anwendung von Niederdruckplasma bereits mehrfach beschrieben worden (24, 30-33). Niederdruckplasmaanlagen bieten den Vorteil, den Reinigungsprozess zu kontrollieren (Steuerung von Druck, Gaszusammensetzung, Temperatur, Durchflussmenge etc.) und durch Prozessdokumentation reproduzierbar zu gestalten. Vorteilhaft ist auch die gleichmäßige Aufbereitung von anspruchsvollen Geometrien (Hohlräume, schraubenförmige Strukturen) (31). Klinische Studien haben gezeigt, dass die Behandlung mit Argonplasma an Implantatabutments unmittelbar vor dem ersten Weichgewebekontakt die Zelladhäsion erhöht und die Kollagenfaserdichte positiv beeinflusst (30). Darüber hinaus zeigte sich in einer klinischen Nachbeobachtungszeit von 6 Jahren ein signifikant erhöhter mittlerer interproximaler Knochenverlust nach der initialen Abutmentreinigung mit Wasserdampf im Vergleich zur Plasmabehandlung (34). Mit Blick

auf zweiteilige Implantatabutments konnten bisher keine negativen Einflüsse auf die Zugfestigkeit nach Plasmabehandlung beobachtet werden (14). Die Plasmabehandlung scheint also mittelfristig periimplantäre Weich- und Hartgewebebedingungen positiv zu beeinflussen.

#### 1.4 Implantat-Abutment-Interface

Für den langfristigen Erfolg der Implantatversorgung ist es wichtig, die Weichgewebsintegration und -barriere des periimplantären epithelialen und bindegewebigen Befestigungskomplexes als schützende Abdichtung zwischen der oralen Umgebung und dem periimplantären Knochen zu erhalten. Diese periimplantäre Übergangszone weist einige Gemeinsamkeiten mit dem umgebenden dento-gingivalen Gewebe natürlicher Zähne auf (35). Wesentliche Unterschiede zur biologischen Versiegelung an natürlichen Zähnen erschweren es jedoch, den anspruchsvollen Übergangsbereich zwischen der Mundhöhle, der oralen Gingiva und dem Abutment vor mikrobieller Besiedlung und Infektion zu schützen. Verliert die biologische Barriere ihre schützende Wirkung, kann es zur Entstehung von entzündlichen periimplantären Erkrankungen kommen (periimplantäre Mukositis, Periimplantitis) (36). Um ein robusteres Interface zu schaffen, rücken die biologischen Unterschiede in den Vordergrund der Forschung (37). Im Gegensatz zu natürlichen Zähnen formiert sich zwischen dem periimplantären Saumepithel und dem Implantat-Abutment-Interface ein verlängerter und weniger stabiler Attachmentkomplex. Zudem fehlt es Implantaten an einer Zementschicht, in der Kollagenfasern in die natürliche Wurzeloberfläche inserieren. Bei Zahnimplantaten scheinen die Kollagenfasern vor allem vom marginalen Knochenkamm ausgehend parallel zum Abutment zu verlaufen. Histologische Untersuchungen konnten zeigen, dass die periimplantäre Weichgewebsversiegelung einem Narbengewebe in der Zusammensetzung, Faserorientierung und Vaskularisation ähnelt (35, 36). Die verringerte mechanische Beständigkeit als auch die schlechtere immunologische Abwehr verdeutlichen, wie leicht die biologische Versiegelung am Implantat-Abutment-Interface zu durchbrechen und zu stören ist. Neben den biologischen Unterschieden zeigten *in vivo* Untersuchungen ferner, dass metallische Abriebpartikel im Mikrometerbereich zu einer entzündlichen Reaktion des periimplantären Weichgewebes beitragen können (38). Daher sollte der Fokus zunächst auf die Reinheit der Oberflächen gerückt werden, um die Qualität des fragilen Implantat-Abutment-Interfaces zu verbessern.

Ein entscheidender Faktor für die Verbesserung des Weichgewebkontakts scheint die Oberflächenrauheit zu sein. Einige mikrobiologische Analysen und klinische Parameter von *in vivo* inserierten Abutments (Titan, Zirkoniumdioxid) deuten auf einen Rauheitsschwellenwert hin. Diese scheint bei einer Rauheit ( $R_a$ ) = 0,2  $\mu\text{m}$  lokalisiert zu sein. Es wurde gezeigt, dass eine weitere Verringerung der Rauheit zu keiner signifikanten Veränderung der quantitativen und qualitativen mikrobiellen Besiedlung führte, sondern zu einem Verlust des Attachments (39, 40). Es scheint also wichtig zu sein, ein Gleichgewicht zwischen bakterieller Adhäsion und Weichgewebsversiegelung herzustellen. Ein standardisiertes klinisches Protokoll konnte die optimale Rauheit ( $R_a=0,22 \mu\text{m}$ ) mit abgestuften handelsüblichen Schleifmitteln erreichen und auf Zirkonoxid übertragen (41).

## 1.5 Problematik

Nach derzeitigem Erkenntnisstand gibt es kein etabliertes Verfahren zur Überwachung und Messung des Kontaminationsgrades auf zweiteiligen Zirkonoxidabutments. Durch den Entwicklungsschub der letzten Jahre im Bereich der Bildgebung (z. B. Desktop-REM) und der Datenanalyse (z. B. KI-gestützte zahnmedizinische Diagnostik) ist es notwendig geworden, geeignete Werkzeuge zur Beurteilung der Reinigungswirksamkeit von Aufbereitungsverfahren für Medizinprodukte in der Implantatprothetik zu entwickeln (42). Bisher konnten nur wenige Studien identifiziert werden, die eine (semi-) quantitative Bewertung von Kontaminationen auf Abutmentoberflächen durch manuelle Bildsegmentierung und Objektzählung vorgenommen haben (17, 18, 22, 43). Obwohl die manuelle Bildauswertung fehleranfällig und zeitaufwändig ist, wird sie immer noch praktiziert. KI-gestützte, reproduzierbare und halbautomatische Verfahren könnten dazu beitragen, die subjektive Variabilität der Untersucher zu überwinden, Expertenressourcen zu schonen und Proben in größerem Umfang in einem Bruchteil der Zeit zu bewerten (24, 42). Eine neu entwickelte Referenzmethode könnte einerseits einen wichtigen Beitrag zur Qualitätssicherung von Aufbereitungsverfahren für Medizinprodukte (z. B. Implantataufbauten) leisten und andererseits die Patientensicherheit erhöhen (24).

## 1.6 Fragestellung

Die vorliegende Arbeit geht der Frage nach, mit welcher Wirksamkeit Hybridabutmentanteile aus Zirkonoxid durch verschiedene Reinigungs- und Desinfektionsverfahren dekontaminiert werden können. Besonderes Gewicht wird in der Arbeit auf die Entwicklung einer bisher noch nicht verwendeten Messmethode gelegt. Für die Untersuchungen wurde eine reproduzierbare rasterelektronenmikroskopische (REM) Bildgebung und -auswertung neu entwickelt, bei der der Kontaminationsgrad integriert in einen Quantifizierungsworkflow vergleichend durch überwachtes maschinelles Lernen (ML) und Schwellenwertbildung (SW) detektiert wurde.

Folgende Fragen sollen anhand dieser *in vitro* Studie beantwortet werden:

- Welche Mengen an verfahrenstechnischen Kontaminationen verbleiben nach der Herstellung, Reinigung und Desinfektion von individualisierten CAD/CAM-Zirkonoxidabutments auf der mukosalen Übergangszone zwischen Mundhöhle und periimplantärem Knochen zurück?
- Sind die Ergebnisse der neu entwickelten Messmethoden vergleichbar?
- Lassen sich geeignete Reinigungs- und Desinfektionsverfahren identifizieren?

Zusätzlich wurde bei allen Proben die chemische Zusammensetzung der darüber liegenden Kontaminationen semiquantitativ mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX-Punktanalysen) analysiert. Die zu überprüfende Nullhypothese war folgende:

„Die Mittelwerte zwischen den verschiedenen Reinigungsmethoden unterscheiden sich nicht signifikant.“

## 2 Methodik

### 2.1 Probenvorbereitung

Gegenstand der Untersuchungen waren 49 zweiteilige Hybridabutments, die sich aus einem CAD/CAM-generiertem Aufbau aus Zirkonoxid und einer konfektionierten Titanklebebasis zusammensetzten. Die laborseitige Herstellung von 49 individualisierten Hybridabutmentanteilen aus Zirkonoxid erfolgte aus voreingefärbten Zirkonblöcken (Anatomic Coloured A2, Zirkonzahn, Gas, Italien). Diese wurden dann auf konfektionierte Titanklebebasen (Titanbasis CAD/CAM, 4,3 mm Durchmesser, CAMLOG Biotechnologies AG, Basel, Schweiz) geklebt. Als Vorlage diente ein klinischer Fall für eine implantatgetragene Einzelzahnkrone auf FDI-Position 14. Die Außen geometrie des individualisierten CAD/CAM-Zirkonoxidabutments wies eine prothetische Höhe von 8,10 mm und eine Abutmentschulterbreite von 5,80 mm auf (**Abbildung 1**).

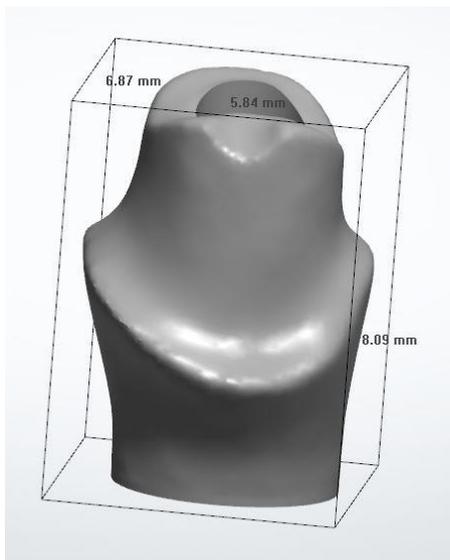


Abbildung 1: CAD-Konstruktion des Zirkonoxid-Hybridanteils

Virtuelle Darstellung eines individualisierten Hybridabutmentanteils aus Zirkonoxid ausgehend von der FDI-Position 14. Quelle: Eigene Darstellung.

Das mesiale Emergenzprofil wurde für alle Probenkörper abgeflacht gestaltet, um für die spätere spektroskopische Analyse eine plane Fläche zu erhalten. In Vorbereitung auf die mechanische Vorbehandlung (APA) wurden die Klebeflächen der Titanbasen und der Keramikstrukturen mit einem Permanentmarker markiert (44). Anschließend erfolgte das Abstrahlen der markierten Haftflächen mit Aluminiumoxidpartikeln ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) der Größe  $50\mu\text{m}$  (Cobra  $50\mu\text{m}$ , Renfert, Hilzingen, Deutschland) mit einem Druck von

0,8 bar und bei einem Abstand von 10 mm (Punktstrahlgerät P-G 400, Hanisch+Rieth, Winterbach, Deutschland), bis die Farbe vollständig entfernt war (45). Es folgte eine Reinigung der Klebeflächen für 30 Sekunden mit ca. 158 °C heißem Wasserdampf (destilliertes Wasser, Wasistream Classic II, Wassermann, Hamburg, Deutschland) und eine Trocknung mit ölfreier Luft. Die gereinigten Klebeflächen wurden konditioniert (Monobond plus, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) und mit lichthärtendem Kunststoffzement nach Herstellerangaben verklebt (Multilink Hybrid Abutment, Ivoclar Vivadent). Überschüssige Zementreste im Bereich der Klebefuge wurden nach einem etablierten Protokoll mit rotierenden Keramikpolierern von grob nach fein poliert (94003C und 94003M, Gebr. Brasseler/Komet Dental, Lemgo, Deutschland) (41). In der Gruppe LA (n=7) wurden die ungeöffneten Titanklebebasen zusammen mit bereits gefrästen Zirkonoxidabutments und dem Kunststoffzement (Multilink Hybrid Abutment, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) an 7 Dentallabore deutschlandweit versendet mit dem Auftrag, die Hybridabutments einsetzfähig für den Patienten zurückzuschicken. Das gesamte Studiendesign ist in **Abbildung 2** dargestellt.

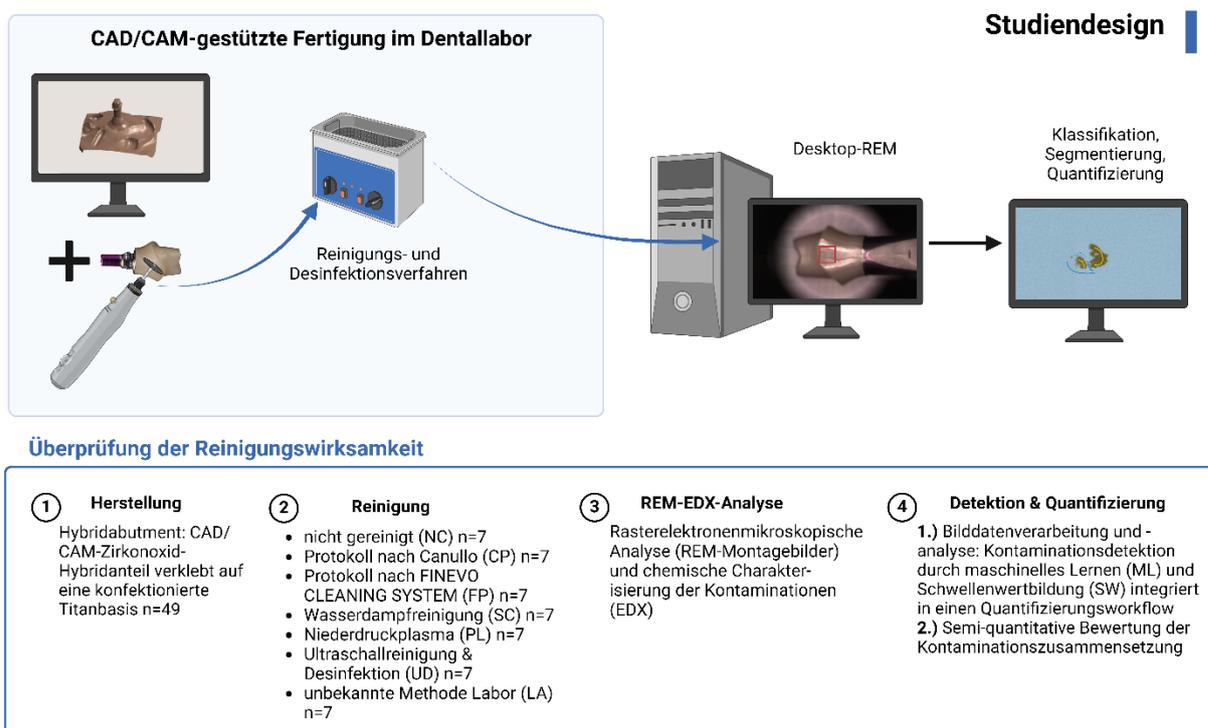


Abbildung 2: Studiendesign

Es stellt die Anzahl der Reinigungsgruppen mit der Probenanzahl sowie den Auswertungsprozess dar. Quelle: Hofmann et al. (PREPRINT), 2023; Created with BioRender.com

## 2.2 Reinigungs- und Desinfektionsmethoden

Die fertigen Probekörper wurden nach dem Zufallsprinzip in 7 Reinigungsgruppen mit je 7 Proben aufgeteilt und einem der nachstehenden Reinigungsverfahren zugeführt:

- Ohne eine weitere Reinigung wurden die Proben mit ölfreier Luft getrocknet. Ungereinigte Abutments wurden als Kontrollgruppe betrachtet. (Gruppe NC)
- In einem dreistufigen ultraschallbasierten Reinigungsprozess wurden die Proben nacheinander für 10 Minuten bei 60 °C eingetaucht: reines Aceton, reines Ethanol und eine antibakterielle Lösung (SONICA CL4%, SOLTEC S.r.l, Mailand, Italien). Zwischen den Ultraschall-Tauchbädern wurden die Proben 5 Minuten in 60 °C warmem destilliertem Wasser gelagert. Insgesamt dauerte der Reinigungsprozess 45 Minuten (18). (Gruppe CP)
- Dreistufige Reinigung im Ultraschallbad bei 40 kHz. Die Probekörper wurden nacheinander jeweils 5 Minuten bei 30 °C in drei verschiedene Lösungen eingetaucht (Finevo Cleaning System, bredent GmbH & Co. KG, Senden, Deutschland). Die erste Lösung enthielt eine Reinigungsflüssigkeit mit desinfizierender Wirkung, gefolgt von 80%igem Ethanol und gereinigtem Wasser (43). (Gruppe FP)
- Reinigung mit Wasserdampf für 30 Sekunden mit 4 Bar Druck bei einer Temperatur von 158 °C und einem Abstand von 10 cm zum Probekörper (Wasistream Classic II, Wassermann, Hamburg, Deutschland). (Gruppe SC)
- Reinigung in einer Niederdruck-Plasmaanlage (Femto PCCE Zahntechnik, Diener Electronic, Ebhausen, Deutschland) mit einem Hochfrequenz-Generator 100 kHz, 200W. Die Proben wurden einzeln in eine individualisierte Haltevorrichtung eingeschraubt und mittig in der Vakuumkammer positioniert, sodass das später zu untersuchende Beobachtungsfeld nach oben ausgerichtet war (**Abbildung 3**). Das Automatikprogramm wurde nach Herstellerempfehlungen eingestellt: Prozessgase Argon und Sauerstoff im gleichen Mischungsverhältnis, 0,20 mbar Solldruck, eine Solltemperatur von 70 °C und eine verringerte Leistung von 80 %. Der Prozess dauerte insgesamt 22 Minuten, wobei die effektive Plasmabehandlung 20 Minuten betrug (24). (Gruppe PL)

- Ultraschallreinigung mit desinfizierender Reinigungslösung für 5 Minuten bei 30 °C (MD 520 Abdruck-Desinfektion, Dürr Dental SE, Bietigheim-Bissingen, Deutschland) und anschließendes Abspülen mit sterilem Wasser (Ampuwa, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) (24). (Gruppe UD)
- Es blieb unklar, nach welchem Protokoll die sieben zahntechnischen Labore reinigten und desinfizierten. (Gruppe LA)

Für die Ultraschallreinigungsprozesse wurde mit einer Frequenz von 37 kHz gearbeitet (Easyclean, Renfert GmbH, Hilzingen, Deutschland) – ausgenommen in der Gruppe FP, hier war bereits das Gerät im Lieferumfang enthalten und wurde ausschließlich in der Gruppe Finevo genutzt. Nach den Reinigungsverfahren wurden alle Proben für die nachfolgende spektroskopische Analyse einzeln in Sterilisationsbeuteln versiegelt (HS-Sterifoil, Henry Schein Dental, Langen, Deutschland). Alle verwendeten Materialien sind in **Tabelle 1** aufgeführt.

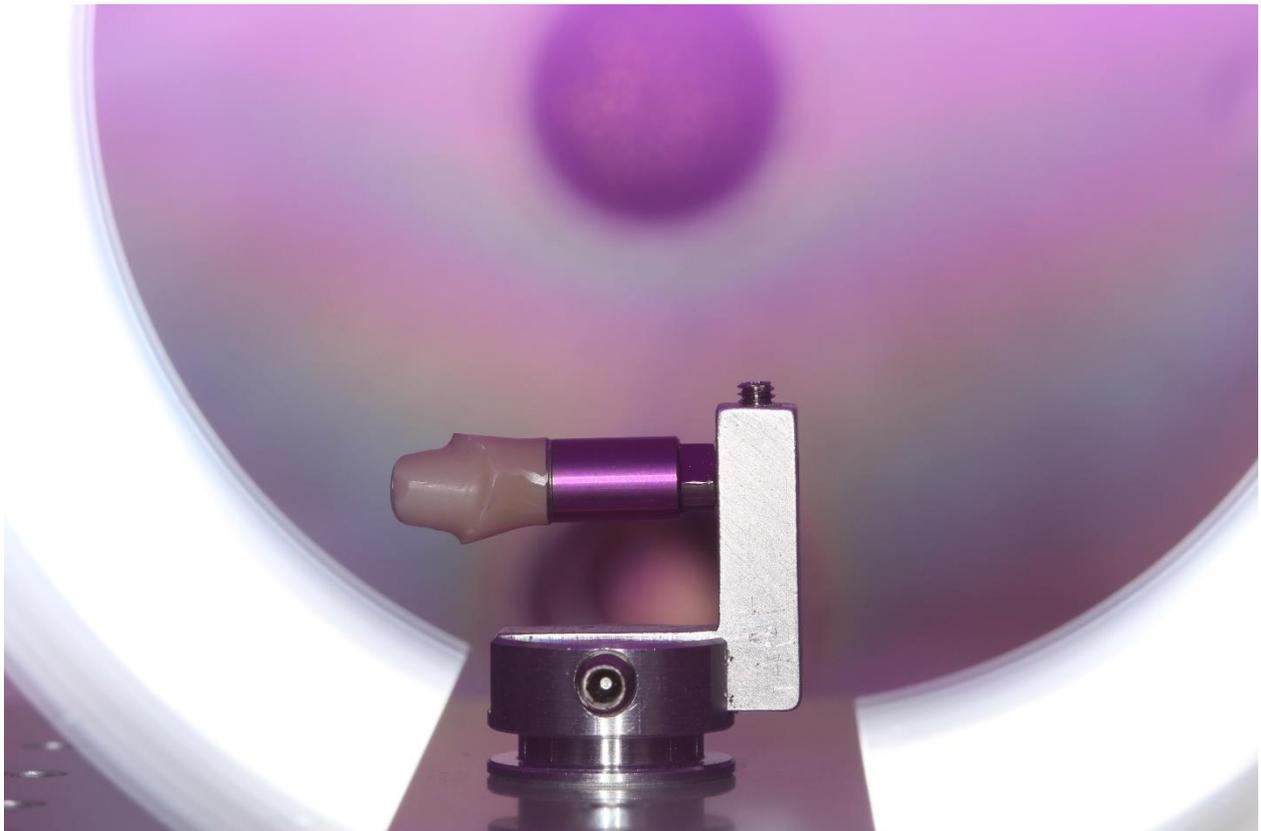


Abbildung 3: Plasmabehandlung in einer Niederdruck-Plasmaanlage

Zweiteiliges Zirkonoxidabutment verschraubt in eine individuelle Haltevorrichtung, das zu untersuchende Abutment ist zentral positioniert innerhalb der Vakuumkammer, die Plasmabehandlung erfolgte automatisch über PCCE-Steuerung. Foto: Paul Hofmann

Tabelle 1: Verwendete Materialien, Zusammensetzung, Hersteller, Artikel- und Lot-Nummern

Material	Zusammensetzung	Hersteller	Art.-No.	Lot No.
Titaniumbasis Ø 4.3 mm	Titanlegierung Ti6Al4V, Titan 90 %, Aluminium 6 %, Vanadium 4 %	CAMLOG Biotechnologies AG	K2244.3848	110088310
Zirkonzahn anatomic Coloured A2	ZrO <sub>2</sub> Hauptbestandteil, Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 4-6 %, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> < 1 %, SiO <sub>2</sub> < 0,02 %, Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> < 0,01 %, Na <sub>2</sub> O < 0,04 %	ZIRKON-ZAHN GMBH	14 ZRHB8021A01	ZB923OA
Multilink Hybrid Abutment	Basis: Ytterbiumtrifluorid, Bis-EMA, Bis-GMA, 2-Hydroxyethylmethacrylat, 2-Dimethylaminoethylmethacrylat  Katalysator: Ytterbiumtrifluorid, Bis-EMA, Urethandimethacrylat, 2-Hydroxyethylmethacrylat, Dibenzoylperoxid	Ivoclar Vivadent	638959AN	Z01N30
Laborimplantat Ø 4.3 mm	Titanlegierung Ti6Al4V, Titan 90 %, Aluminium 6 %, Vanadium 4 %	CAMLOG Biotechnologies AG	K3010.4300	20093898
Monobond plus	Ethanol, Silan, Methacrylatphosphorsäureester	Ivoclar Vivadent	638959AN	Z028SW
Keramikpolierler	20-50 % Polyurethan und/oder Silikon, 40-80 % Schleifpartikel, 0-10 % Farbpigmente	Gebr. Brasse-ler GmbH & Co. KG	94003C, 94003M	519801
Aceton	> 95 % Aceton	Fisher Scientific U.K. Limited	16120	1725630
Ethanol	Ethanol 96 %	Dr. K. Hollborn & Söhne	200-578-6	0219
SONICA CL4%	100 g Sonica CL 4 % enthält 15 g Cetrimid, 1,5 g Chlorhexidinguconat, Hilfsstoffe: Beistoffe, Duftstoffe, Farbstoffe und gereinigtes Wasser bis zu 100,0 g	SOLTEC S.r.l	090.005.0017	J1523
FINEVO CLEANING SYSTEM	FINEVO 01.1: Reinigungsflüssigkeit mit desinfizierender Wirkung	breident GmbH & Co. KG	53001001	496262
FINEVO 01 Starter-Set	FINEVO 01.2: 80 % Ethanol	breident GmbH & Co. KG	53001002	496263
	FINEVO 01.3: hochgereinigtes Wasser (aqua bidestillata)	breident GmbH & Co. KG	53001003	496264
MD520	Aldehyde, quaternäre Ammoniumverbindungen, Alkohole, nichtionische Tenside, Komplexbildner, Hilfsstoffe in wässriger Lösung	DÜRR DENTAL SE	CDA520C6150	1925009
Ampuwa	Steriles, pyrogenfreies Wasser (Aqua ad iniectionem)	Fresenius Kabi Deutschland GmbH	1088813	13MMP051

Argon (Ar)	Argon komprimiert	CFH Löt- und Gasgeräte GmbH	52514	---
Sauerstoff (O <sub>2</sub> )	Sauerstoff komprimiert	ROTHENBERGER Industrial GmbH	35741	---

Anmerkungen: ZrO<sub>2</sub> = Zirkonoxid; Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = Yttrium (III)-oxid; Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = Aluminiumoxid; SiO<sub>2</sub> = Siliciumdioxid; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = Eisen (III)-oxid; Na<sub>2</sub>O = Natriumoxid; Bis-GMA = Bisphenol-A-Diglycidylmethacrylat; Bis-EMA = Bisphenol-A-Diglycidylmethacrylat ethoxyliert. Quelle: Hofmann et al. (PREPRINT), 2023

### 2.3 Bildgebung (REM)

Alle 49 Proben wurden einer rasterelektronenmikroskopischen Analyse (REM) unterzogen (Phenom ProX, Phenom-World B.V., Eindhoven, Niederlande). Im zeitlichen Zusammenhang erfolgte zudem eine chemische Oberflächenanalyse durch energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX). Dabei lehnte sich das Bildgebungssetting methodisch an Gehrke et al. an und wurde in der vorliegenden Untersuchung abgeändert (42, 43). Für eine reproduzierbare Positionierung der Probenkörper wurde eine modifizierte Halterung konstruiert (**Abbildung 4**). Dazu wurde ein Laborimplantat so verlötet und ausgerichtet, dass die spätere Untersuchungsfläche horizontal ausgerichtet war (Camlog Laborimplantat, 4,3 mm Durchmesser, CAMLOG Biotechnologies AG, Basel, Schweiz). Unter Reinraumbedingungen (Laminar FlowBox, Reinraumklasse 5, DIN EN ISO 14644-1, Spetec GmbH, Erding, Deutschland) wurde jede Probe aus dem Sterilisationsbeutel entpackt, ohne die Untersuchungsfläche zu berühren. Anschließend wurden alle Probenkörper auf einem ladungsreduzierenden Probenhalter (Charge-reduction sample holder, Phenom-World B.V., Eindhoven, Niederlande) mit Hilfe der Nut-Nocken-Verbindungsgeometrie im individualisierten Halter verschlüsselt, mit einer Abutmentschraube handfest montiert und ausgerichtet (**Abbildung 4**). Die desktop-basierte REM-Bildgebung und Analyse ermöglichen dem Anwender ein Software-gestütztes und automatisiertes Abtastmuster (Mapping) des vordefinierten Untersuchungsfeldes. Im Speziellen lassen sich durch die computergesteuerte motorisierte Tischausrichtung in der X und Y Matrix große Proben mit hoher Auflösung Feld für Feld scannen. Aus den einzelnen gescannten Feldern kann ein großes Montagebild erstellt werden.

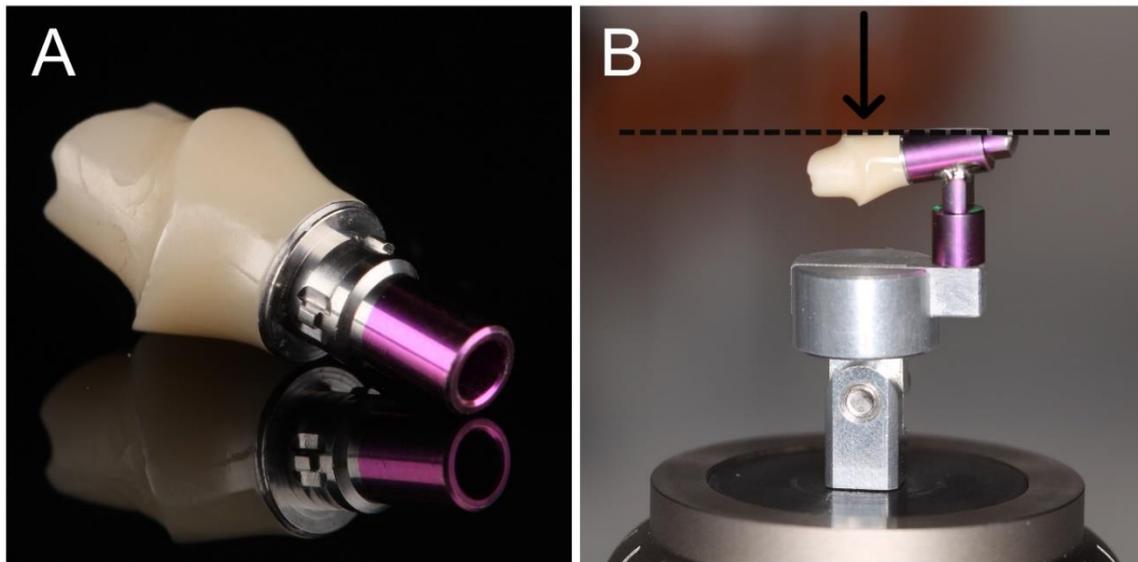


Abbildung 4: CAD/CAM-Hybridabutment

(A) individualisiertes CAD/CAM-Zirkonoxidabutment verklebt auf eine konfektionierte Titanklebebasis; (B) individualisierter REM-Probenhalter, die Proben sind durch eine ineinandergreifende Nut- und Nockenverbindung reproduzierbar verschlüsselt, die Untersuchungsfläche ist horizontal ausgerichtet. Quelle: Hofmann et al., 2023

Bei Verwendung eines ladungsreduzierenden Probenhalters ist zudem eine zusätzliche Probenvorbereitung, wie z. B. eine Sputterbeschichtung, nicht erforderlich. Der natürliche Oberflächenzustand nichtleitender Proben kann ohne Aufladungsartefakte abgebildet werden; dies führt zu einer hohen Bildqualität (46). Zur Abbildung der Probenoberfläche ist das REM im Dach der Probenkammer mit einem hochempfindlichen Rückstreuendetektor (BSE-Detektor) ausgestattet und arbeitet mit einer Beschleunigungsspannung von 15 kV. Nachdem der Primärelektronenstrahl auf die Objekt Oberfläche trifft, werden Elektronen von der Probe zurückgeworfen und durch den BSE-Detektor detektiert. Die Stärke des Signals, die einen BSE-Detektor erreicht, ist dabei proportional zur mittleren Ordnungszahl „Z“ des zugrundeliegenden Elementes. Somit korreliert eine "hellere" BSE-Intensität mit einer höheren durchschnittlichen Z-Zahl in der Probe, und "dunkle" Bereiche haben eine niedrigere durchschnittliche Z-Zahl (46). Bei dem so entstandenen Materialkontrastbild kann bereits visuell die Materialzusammensetzung der Abutmentkomponenten unterschieden werden. Vor der eigentlichen REM-Bildgebung wurde über die integrierte Navigationskamera für alle Proben ein einheitliches quadratisches Beobachtungsfeld definiert (**Abbildung 5**).

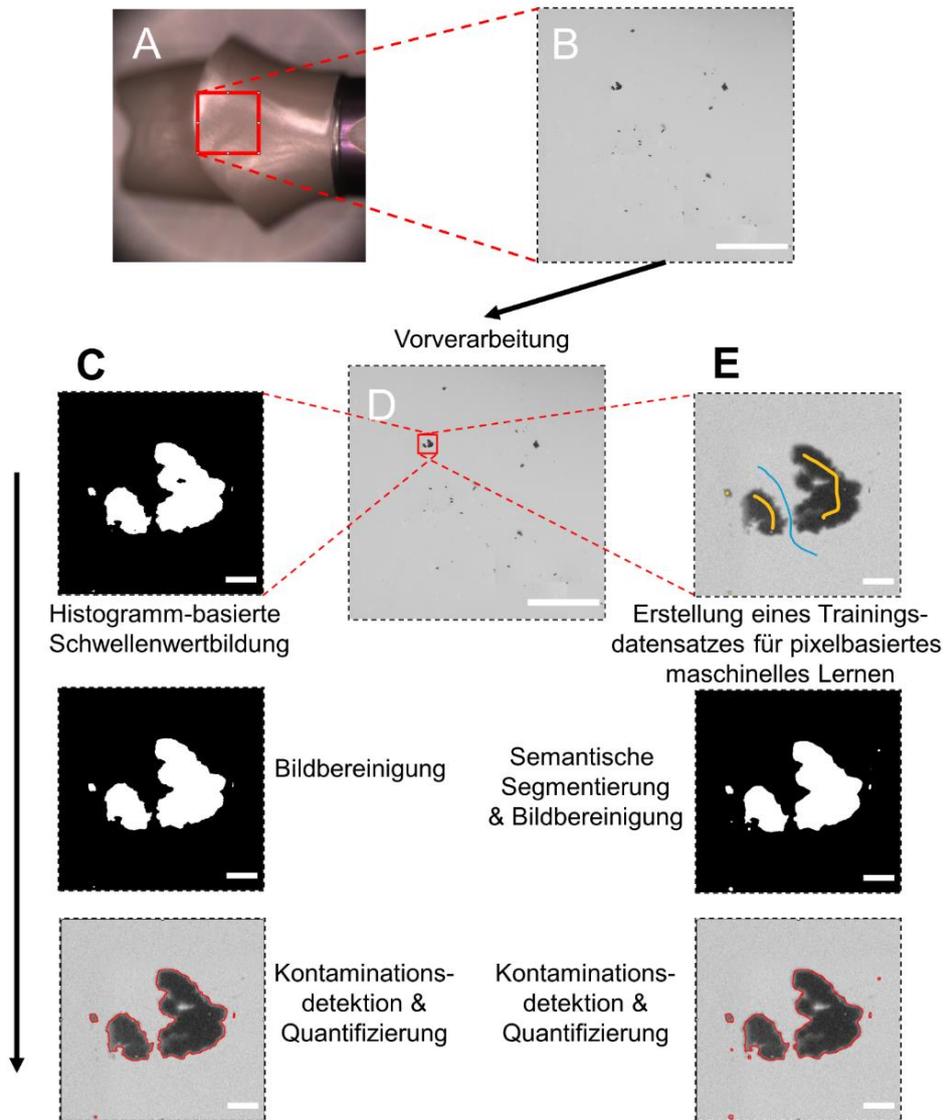


Abbildung 5: Arbeitsabläufe für die Messmethoden ML und SW

Selbst entwickelte Arbeitsabläufe zur Detektion und Quantifizierung von Kontaminationen auf Zirkoniumdioxid-Abutments; identifizierte Kontaminationen sind als Regions-of-Interest (ROIs) rot markiert. Die Nachbearbeitungsstrecke umfasst die binäre Bereinigung mit morphologischen Operationen (Löcher füllen, erodieren, dilatieren), die Kalibrierung ( $1\mu\text{m} = 3,9\text{ Pixel}$ ), den Ausschluss von Kontaminationen  $< 2\text{ Pixel}$ , sowie mit Extension über die Grenzen des Beobachtungsfeldes hinweg:

(A) Übersichtsaufnahme über die Navigationskamera, rote quadratische Markierung zeigt das vordefinierte Beobachtungsfeld

(B) unverarbeitetes, zusammengesetztes rasterelektronenmikroskopisches Materialkontrastbild;

(C) globale schwellenwertbasierte Segmentierung und Nachbearbeitungsstrecke in Fiji (54);

(D) Vorverarbeitung: In beiden Arbeitsabläufen wurde eine Mittelwertfilterung zur Reduzierung des Signal-Rausch-Verhältnisses verwendet;

(E) Segmentierung mit pixelbasiertem maschinellem Lernen in ilastik (48), gefolgt von einer Nachbearbeitungsstrecke in Fiji;

Für ein reproduzierbares Wiederauffinden wurden die oberen beiden Ecken des Feldes an den Übergang vom koronalen Emergenzprofil zur Abutmentschulter definiert. Anschließend wurde das Beobachtungsfeld bei 1000-facher Vergrößerung vollautomatisch abgetastet. Die eingebundene Software (AIM, Version 2.0.2) setzte die 32 Einzelbilder in einem automatisierten Verfahren elektronisch zusammen (Image Stitching). Die Montagebilder hatten eine Breite von 6868 und eine Höhe von 6868 Pixeln, einen Kanal mit der Maßordnung XYZCT. Die Pixelgröße betrug 0,26  $\mu\text{m}$ .

#### **2.4 Semiquantitative chemische Oberflächenanalyse (EDX)**

Um die chemische Zusammensetzung der Kontaminationen im Bereich des Beobachtungsfeldes zu analysieren, wurden bei jeder Probe mehrere EDX-Punktanalysen durchgeführt. Durch den vollintegrierten thermoelektrisch gekühlten Silizium-Drift-Detektor (SDD) erfolgten alle Messungen im zeitlichen Zusammenhang mit den REM-Aufnahmen, ohne dass die Proben nochmals montiert oder herausgenommen wurden. Für jede untersuchte Probe wurden mindestens 2 verschiedene Kontaminationen bei 2500-facher Vergrößerung auf ihre Elementzusammensetzung analysiert. Der Arbeitsabstand betrug 6 mm mit einem Sichtfeld (FOV) von 108  $\mu\text{m}$ . Angeregt durch die Wechselwirkungen zwischen den eingestrahnten Elektronen und dem elektromagnetischen Feld der untersuchten Proben wird die charakteristische Röntgenstrahlung elementspezifisch emittiert. Die Beschleunigungsspannung betrug 15 kV, die aktive Detektorfläche hatte einen Flächenanteil von 25 mm<sup>2</sup> bei einem Take-off angle (TOA) von 29°. Die Position des Peaks identifiziert das Element, während die Intensität des Signals die Zahl der je Element detektierten Röntgenquants angibt. Mithilfe eines automatischen Algorithmus zur Peak-Entfaltung wurde das Spektrum durch die Software ausgewertet (Phenom Elemental Identification Version 3.8.4.0, ThermoFisher Scientific, Eindhoven, Niederlande). Für die Peak-identifizierung des erfassten Spektrums wurde  $\geq 0.95$  Peakübereinstimmung festgelegt, Elemente mit geringerer Übereinstimmung wurden nicht berücksichtigt und softwareseitig ausgeblendet. Der relative Konzentrationsanteil (in Atomprozent, at. %) der nachgewiesenen Elemente wurde für alle Gruppen berechnet. Elemente  $\leq 1$  at. % wurden herausgefiltert.

## 2.5 Bilddatenverarbeitung und -analyse

Die REM-Montagebilder wurden einer computergestützten Bildanalyse unterzogen, um den Kontaminationsgrad aus dem Beobachtungsfeld quantitativ zu erfassen. Der Flächenanteil wurde in Prozent (%) angegeben. Zur Detektion und Quantifizierung sind zwei selbstentwickelte Messmethoden angewendet worden: Überwachtes maschinelles Lernen (ML) und Schwellenwertbildung (SW). Für die Reproduzierbarkeit wurde die Bildvor- und -nachbearbeitungsstrecke in der Open-Source-Software *Fiji* (ImageJ, Version 1.53c, <https://imagej.net/software/fiji/downloads>) in ein benutzerdefiniertes Skript in ImageJ Makrosprache überführt (47). Beide Arbeitsabläufe sind nicht vollständig automatisiert und erforderten manuelle Befehle durch den Anwender. Die Bildsegmentierung erfolgte durch semantische Segmentierung durch pixelbasiertes maschinelles Lernen (*ilastik*, Version 1.3.3, <https://www.ilastik.org/download.html>) und durch eine globale (Histogramm-basierte) Schwellenwertmethode. Die Makroskripte wurden mehrmals getestet, um zu überprüfen, ob die Ergebnisse reproduzierbar waren. Die Segmentierungsergebnisse wurden als Regions-of-Interest (ROIs) über die REM-Rohbilddaten gelegt, um die Segmentierungsleistung visuell zu überprüfen (**Abbildung 5**).

## 2.6 Bildsegmentierung durch überwachtes maschinelles Lernen (ML) und Schwellenwertbildung (SW)

Die REM-Montagebilder wurden zunächst verlustfrei in einem hierarchischen Datenformat (HDF5) komprimiert. Nachfolgend wurde ein repräsentativer Teil der Daten (Trainingsdatensatz) zur Pixelklassifikation in *ilastik* geladen. Zwei parallele Workflows (Pixelklassifikation und Autokontext (2-stufig)) wurden verwendet, um Kontaminationen in semantische Klassen zu segmentieren. *ilastik* ist eine Open-Source-Software mit einer grafischen Benutzeroberfläche (GUI). Dem Anwender stehen vordefinierte Arbeitsabläufe für die automatische Segmentierung, Klassifizierung, Verfolgung und Zählung in 2D- und 3D-Bild- und Videodatensätzen zur Verfügung (48). Die Einteilung der REM-Montagebilder in semantische Klassen wurde in beiden Workflows wie folgt vorgenommen: Basierend auf allen generischen Bildmerkmalen und verschiedenen Skalen wurde interaktiv ein Random-Forest-Klassifikator (RF) trainiert. Auf der Basis des eingespeisten Trainingsdatensatzes kann der Anwender die verschiedenen Klassen (z. B. „Hintergrund“ oder „Kontamination“) selbst definieren. Über eine Maloberfläche erfolgt eine Klassenzuordnung

durch wenige feine und präzise gesetzte Pinselstriche auf den Kontaminationen und der Zirkonoxidoberfläche (**Abbildung 6**).

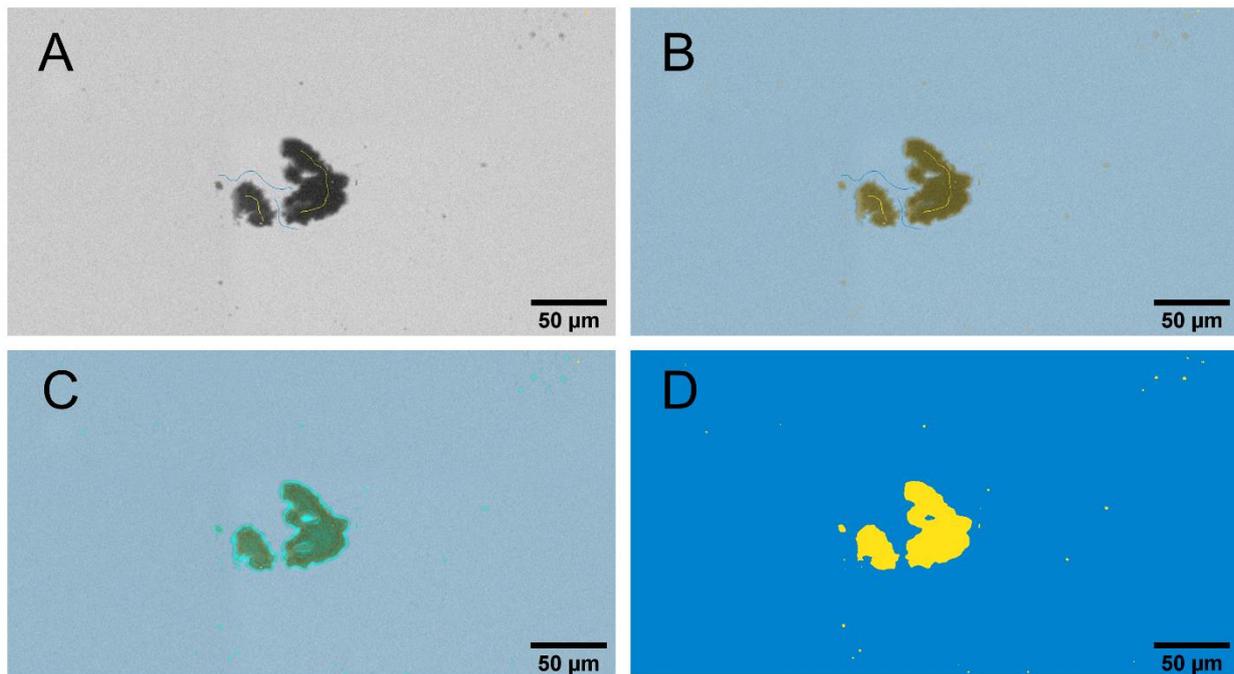


Abbildung 6: Klassifizierung und Segmentierung durch maschinelles Lernen

Zweistufiger Autokontext Arbeitsaufbau in *ilastik* (48). (A) Rohbildausschnitt mit spärlichen Annotationen – Klassendefinition durch Pinselstriche: Hintergrund (blau) und Kontaminationen (gelb); (B) Vorhersagekarte: Hintergrund = transparentes Blau, Kontaminationen = transparentes Gelb; (C) Unsicherheitskarte: Pixel im Klassengrenzbereich bleiben auch bei einem gut trainierten Klassifikator unsicher (türkis), der Hintergrund sollte sich homogen darstellen; (D) Segmentierungsergebnis (Ausgabe für Quantifizierungsprozess in *Fiji*). Quelle: Hofmann et al., 2023

Abhängig von den Eigenschaften des Datensatzes können die Merkmale und Skalen reduziert werden, um Computerressourcen zu schonen. *ilastik* verwendet die Annotationen, um die Wahrscheinlichkeit zu schätzen, welcher Bildpixel zu welcher semantischen Klasse gehört. Um die Ergebnisse zu verfeinern, wird im Nachgang korrigiert, wo die Vorhersage falsch war oder Unsicherheiten auftraten. Der Trainingsdatensatz wurde annotiert, bis sich die Vorhersage des Klassifikators nicht mehr änderte. Im Autocontext (2-stage) Arbeitsablauf werden in einem zweiten Abschnitt die Ergebnisse der vorangegangenen Stufe (Vorhersagekarte) als Input genutzt und in weiteren Kanälen an die Rohdaten angefügt. Unter Einsatz der Bildmerkmale lernt der Algorithmus, Kanten und Texturvariationen aus beiderlei Datensätzen – der Vorhersagekarte und den erneuten Rohdaten - zu interpretieren (49, 50). Beide Arbeitsabläufe wurden unter Hinzunahme des sogenannten "Out-of-Bag-Fehler" (OOB) intern validiert (42). Der OOB-Fehler stellt hierbei eine unverzerrte Schätzung für die tatsächliche Fehlerquote dar (51, 52). Der mittlere

OOB-Fehler für den RF im Workflow Pixelklassifikation (RFP) betrug 0,63 %, verglichen mit dem Random Forest Klassifikator im Autokontext-Workflow (RFA) mit 0,44 % (42). Alle ungesehenen REM-Montagebilder wurden nachfolgend als Stapelverarbeitung durch den trainierten RF des Autokontext-Workflow ausgewertet.

Die Segmentierung durch Schwellenwertbildung (SW) wurde wie folgt durchgeführt: Um unregelmäßigen Ausleuchtungsbedingungen Rechnung zu tragen, wurde für alle REM-Montagebilder ein manueller Schwellenwert von 20 % unterhalb des modalen Grauwertes definiert. Anschließend folgte eine automatische globale Methode zur Segmentierung der Graustufenbilder in die einzelnen ROIs (53).

## **2.7 Statistische Auswertung**

Die Daten wurden mit einem Statistikprogramm für Windows ausgewertet (Version 27.0, IBM SPSS). Nicht-parametrische Verfahren (Kruskal-Wallis-Test) wurden verwendet, um die Unterschiede im Kontaminationsgrad zwischen den sieben Reinigungsgruppen zu untersuchen. Die quantitative Auswertung beider Messmethoden (SW, ML) erfolgte durch deskriptive Datenanalyse. P-Werte für anschließende Mehrfachvergleiche wurden nach Bonferroni korrigiert, um zu beurteilen, zwischen welchen Gruppenpaaren die Unterschiede statistisch signifikant waren. Die Effektstärke wurde nach Cohen (d) gemessen. Zum Vergleich beider Messmethoden wurden der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verwendet und ein Bland-Altman-Diagramm aufgestellt. Im Streudiagramm wurde die Differenz beider Methoden (SW - ML) gegen den Mittelwert aufgetragen. Die quantitative Auswertung der EDX-Analysen erfolgte durch deskriptive Statistik. Die Ergebnisse wurden bei einem zweiseitigen Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  für statistisch signifikant erklärt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Quantitativer Nachweis durch überwachttes maschinelles Lernen

Die Proben, die durch die Reinigungsmethode FP, CP und PL gereinigt wurden, zeigten die höchste Reinigungswirksamkeit im Vergleich zu der Methode UD, SC, NC und LA (**Abbildung 7, Tabelle 2**). Ein Kruskal-Wallis-Test wies nach, dass der Kontaminationsgrad bezogen auf die Gesamtuntersuchungsfläche durch die Reinigungsmethoden signifikant beeinflusst wurde ( $H(6) = 33,8$ ,  $p \leq 0,00001$ ). Anschließend durchgeführte Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Tests) legten für die Gruppen FP-LA/NC den größten Unterschied dar, gefolgt von CP/LA, PL/LA, CP/NC und PL/NC ( $p \leq 0,05$ , UD/LA, UD/NC, SC/LA, FP/SC, SC/NC, FP-CP/PL/UD, CP-PL/UD/SC, PL-UD/SC, UD/SC, NC/LA unterschieden sich nicht signifikant voneinander) (**Tabelle 3**) (24). Bei allen signifikanten Gruppenvergleichen ließ sich ein starker Effekt nach Cohen erkennen. Der größte Effekt zeigte sich bei den Gruppenvergleichen FP/NC, PL/NC und CP/NC mit  $d = 4,92$ ,  $d = 4,75$  und  $d = 4,60$ .

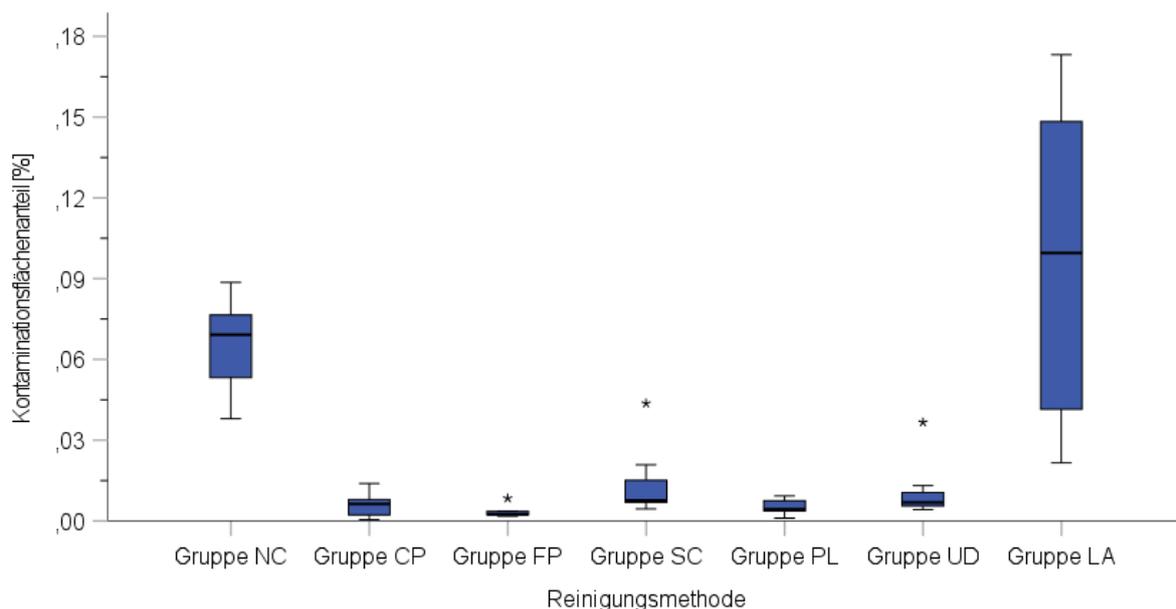


Abbildung 7: Box-Plot-Diagramm für Messmethode ML

Box-Plot-Diagramm des Kontaminationsgrades in Prozent (%) je Reinigungsgruppe für die Messmethode ML. NC = nicht gereinigt; CP = Reinigungsprotokoll nach Canullo; FP = Reinigungsprotokoll nach FINEVO CLEANING SYSTEM; SC = Wasserdampfreinigung; PL = Niederdruckplasmareinigung; UD = Ultraschallreinigung und Desinfektion; LA = Laborgruppe mit unbekanntem Reinigungsmethoden. Ein Ausreißer mit 0,31 % in der Gruppe LA wurde zur besseren Ansicht beschnitten. Quelle: Modifiziert nach Hofmann et al. (PREPRINT), 2023

Tabelle 2: Deskriptive Statistik Messmethodenvergleich in Prozent

Reinigungsmethode		Schwellenwertverfahren	Maschinelles Lernen
		(SW)	(ML)
		Kontaminationsgrad (%)	Kontaminationsgrad (%)
Gruppe NC (n = 7)	<i>M</i>	,041	,065
	<i>SD</i>	,013	,018
	<i>Mdn</i>	,036	,069
	<i>IQA</i>	,017	,025
Gruppe CP (n = 7)	<i>M</i>	,008	,006
	<i>SD</i>	,005	,005
	<i>Mdn</i>	,010	,006
	<i>IQA</i>	,008	,007
Gruppe FP (n = 7)	<i>M</i>	,007	,003
	<i>SD</i>	,009	,002
	<i>Mdn</i>	,001	,003
	<i>IQA</i>	,017	,001
Gruppe SC (n = 7)	<i>M</i>	,014	,014
	<i>SD</i>	,011	,014
	<i>Mdn</i>	,010	,008
	<i>IQA</i>	,014	,014
Gruppe PL (n = 7)	<i>M</i>	,010	,005
	<i>SD</i>	,004	,003
	<i>Mdn</i>	,011	,004
	<i>IQA</i>	,003	,004
Gruppe UD (n = 7)	<i>M</i>	,010	,011
	<i>SD</i>	,009	,012
	<i>Mdn</i>	,007	,007
	<i>IQA</i>	,017	,008
Gruppe LA (n = 7)	<i>M</i>	,093	,116
	<i>SD</i>	,096	,101
	<i>Mdn</i>	,073	,100
	<i>IQA</i>	,101	,148

Anmerkungen: n = 49, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Mdn = Median, IQA = Interquartilsabstand, Dezimalstellen wurden aufgerundet. NC = nicht gereinigt; CP = Reinigungsprotokoll nach Canullo; FP = Reinigungsprotokoll nach FINEVO CLEANING SYSTEM; SC = Wasserdampfreinigung; PL = Niederdruckplasmareinigung; UD = Ultraschallreinigung und Desinfektion; LA = Laborgruppe mit unbekanntem Reinigungsmethoden. Quelle: Hofmann et al. (PREPRINT), 2023

Tabelle 3: Statistische Analyse des Einflusses der Reinigungsmethode auf die Reinigungswirksamkeit für Messmethode ML

Gruppe 1- Gruppe 2	M <sub>Diff</sub> in % (1-2)	<i>d</i> <sub>Cohen</sub>	P	adj. P <sup>a</sup>
FP-CP	-0,0024		,421	1
FP-PL	-0,0019		,379	1
FP-UD	-0,0079		,089	1
FP-SC	-0,0108		,033	,693
FP-NC	-0,0616	4,92	,000	,001
FP-LA	-0,1122	1,57	,000	,000
CP-PL	0,0006		,940	1
CP-UD	-0,0055		,369	1
CP-SC	-0,0084		,184	1
CP-NC	-0,0591	4,60	,001	,015
CP-LA	-0,1098	1,54	,000	,010
PL-UD	-0,0061		,411	1
PL-SC	-0,0089		,210	1
PL-NC	-0,0597	4,75	,001	,020
PL-LA	-0,1103	1,55	,001	,013
UD-SC	-0,0029		,667	1
UD-NC	-0,0536		,013	,270
UD-LA	-0,1043		,009	,196
SC-NC	-0,0508		,040	,832
SC-LA	-0,1014		,030	,631
NC-LA	-0,0506		,911	1

Anmerkungen: Dezimalstellen wurden aufgerundet. Nach dem Kruskal-Wallis-Test wurden paarweise Vergleiche durchgeführt (a = p-Werte wurden von der Bonferroni-Korrektur mit dem Faktor 21 für mehrere Tests adjustiert). Das Signifikanzniveau betrug 0,05. Fettgedruckte Schrift kennzeichnet statistisch signifikante Unterschiede. Die Effektstärke (*d*<sub>Cohen</sub>) wurde aus der Mittelwertdifferenz und den gepoolten Standardabweichungen berechnet.

NC = nicht gereinigt; CP = Reinigungsprotokoll nach Canullo; FP = Reinigungsprotokoll nach FINEVO CLEANING SYSTEM; SC = Wasserdampfreinigung; PL = Niederdruckplasmareinigung; UD = Ultraschallreinigung und Desinfektion; LA = Laborgruppe mit unbekanntem Reinigungsmethoden. Quelle: Hofmann et al. (PREPRINT), 2023

### 3.2 Quantitativer Nachweis basierend auf Schwellenwertbildung

Die Proben, die durch die Reinigungsmethode FP, CP und UD gereinigt wurden, erzielten die höchste Reinigungswirksamkeit gegenüber den Proben SC, PL, NC und LA (**Abbildung 8, Tabelle 2**). Ein Kruskal-Wallis-Test wies nach, dass der Kontaminationsgrad, bezogen auf die Gesamtuntersuchungsfläche, durch die Reinigungsmethoden signifikant beeinflusst wurde ( $H(6) = 28,2, p \leq 0,0001$ ). Die nachfolgend durchgeführten Post-hoc-Tests (Dunn-Bonferroni-Tests) zeigten für die Gruppen FP-NC/LA den größten Unterschied im Kontaminationsgrad, gefolgt von CP/LA, CP/NC, UD/LA und UD/NC ( $p \leq 0,05$ , FP-CP/UD/PL/SC, CP-UD/PL/SC, UD-PL/SC, PL-SC/NC/LA, SC-NC/LA und NC/LA unterschieden sich nicht signifikant voneinander) (**Tabelle 4**) (24). Bei allen signifikanten Gruppenvergleichen handelte es sich um einen starken Effekt nach Cohen. Bei den Gruppenunterschieden CP/NC und FP/NC ließ sich der stärkste Effekt mit  $d = 3,36$  und  $d = 3,00$  erkennen.

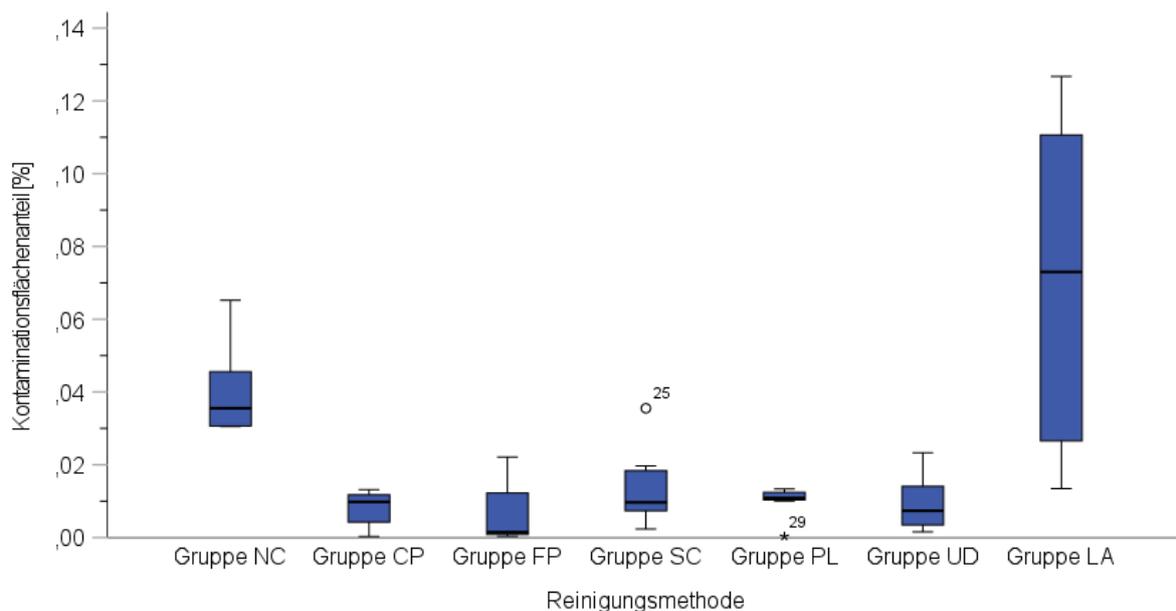


Abbildung 8: Box-Plot Diagramm für Messmethode SW

Box-Plot Diagramm des Kontaminationsgrades in Prozent (%) je Reinigungsgruppe für die Messmethode SW. NC = nicht gereinigt; CP = Reinigungsprotokoll nach Canullo; FP = Reinigungsprotokoll nach FINEVO CLEANING SYSTEM; SC = Wasserdampfreinigung; PL = Niederdruckplasmareinigung; UD = Ultraschallreinigung und Desinfektion; LA = Laborgruppe mit unbekanntem Reinigungsmethoden. Ein Ausreißer mit 0,29 % in der Gruppe LA wurde zur besseren Ansicht beschnitten. Quelle: Modifiziert nach Hofmann et al. (PREPRINT), 2023

Tabelle 4: Statistische Analyse des Einflusses der Reinigungsmethode auf die Reinigungswirksamkeit für Messmethode SW

Gruppe 1 - Gruppe 2	M <sub>Diff</sub> in %	<i>d</i> <sub>Cohen</sub>	P	adj. P <sup>a</sup>
FP-CP	-0,0007		,708	1
FP-UD	-0,0025		,600	1
FP-PL	-0,0029		,379	1
FP-SC	-0,0070		,246	1
FP-NC	-0,0334	3,00	,000	,006
FP-LA	-0,0858	1,26	,000	,006
CP-UD	-0,0017		,881	1
CP-PL	-0,0021		,614	1
CP-SC	-0,0063		,432	1
CP-NC	-0,0326	3,36	,001	,024
CP-LA	-0,0850	1,25	,001	,022
UD-PL	-0,0004		,722	1
UD-SC	-0,0045		,525	1
UD-NC	-0,0309	2,81	,002	,040
UD-LA	-0,0833	1,22	,002	,038
PL-SC	-0,0041		,779	1
PL-NC	-0,0305		,006	,125
PL-LA	-0,0829		,006	,118
SC-NC	-0,0264		,014	,285
SC-LA	-0,0788		,013	,270
NC-LA	-0,0524		,985	1

Anmerkungen: Dezimalstellen wurden aufgerundet. Nach dem Kruskal-Wallis-Test wurden paarweise Vergleiche durchgeführt (a = p-Werte wurden von der Bonferroni-Korrektur mit dem Faktor 21 für mehrere Tests adjustiert). Das Signifikanzniveau betrug 0,05. Fettgedruckte Schrift kennzeichnet statistisch signifikante Unterschiede. Die Effektstärke (*d*<sub>Cohen</sub>) wurde aus der Mittelwertdifferenz und den gepoolten Standardabweichungen berechnet.

NC = nicht gereinigt; CP = Reinigungsprotokoll nach Canullo; FP = Reinigungsprotokoll nach FINEVO CLEANING SYSTEM; SC = Wasserdampfreinigung; PL = Niederdruckplasmareinigung; UD = Ultraschallreinigung und Desinfektion; LA = Laborgruppe mit unbekanntem Reinigungsmethoden. Quelle: Hofmann et al. (PREPRINT), 2023

### 3.3 Messmethodenvergleich

Es wurde ein Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet, um die Kontaminationsgrade beider Messmethoden, gemessen in Prozent (%), zu vergleichen. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Prozentsätzen (Median = 0,004; Mittelwert = 0,006), die mit SW (Median = 0,012; Mittelwert = 0,026) und die mit ML (Median = 0,008; Mittelwert = 0,032) ermittelt wurden, asymptotischer Wilcoxon-Test:  $z = -1,24$ ,  $p = 0,22$ ,  $n = 49$ . Der Interquartilsabstand (IQA) betrug für ML 0,037 und für SW 0,024. Zur Messung der Methodenübereinstimmung wurden die Unterschiede zwischen ML und SW auf der Y-Achse zu den Mittelwerten von ML und SW auf der X-Achse mit Hilfe eines Bland-Altman-Diagramms aufgetragen (**Abbildung 9**). Dabei fällt auf, dass die Daten bei kleinerem Kontaminationsgrad näher beieinanderliegen. Ab 0,03 % kommt es zu einer negativen Verzerrung, hier scheint die Messmethode ML höhere Werte zu messen. Die mittlere Differenz der Kontaminationsfläche zwischen beiden Messmethoden betrug -0,006 % (95 % Konfidenzintervall CI von -0,0112 % bis 0,0001 %), Die „Limits of Agreement“ ( $\pm 1,96$  SD) lagen bei 0,033 % respektive -0,044 % (42).

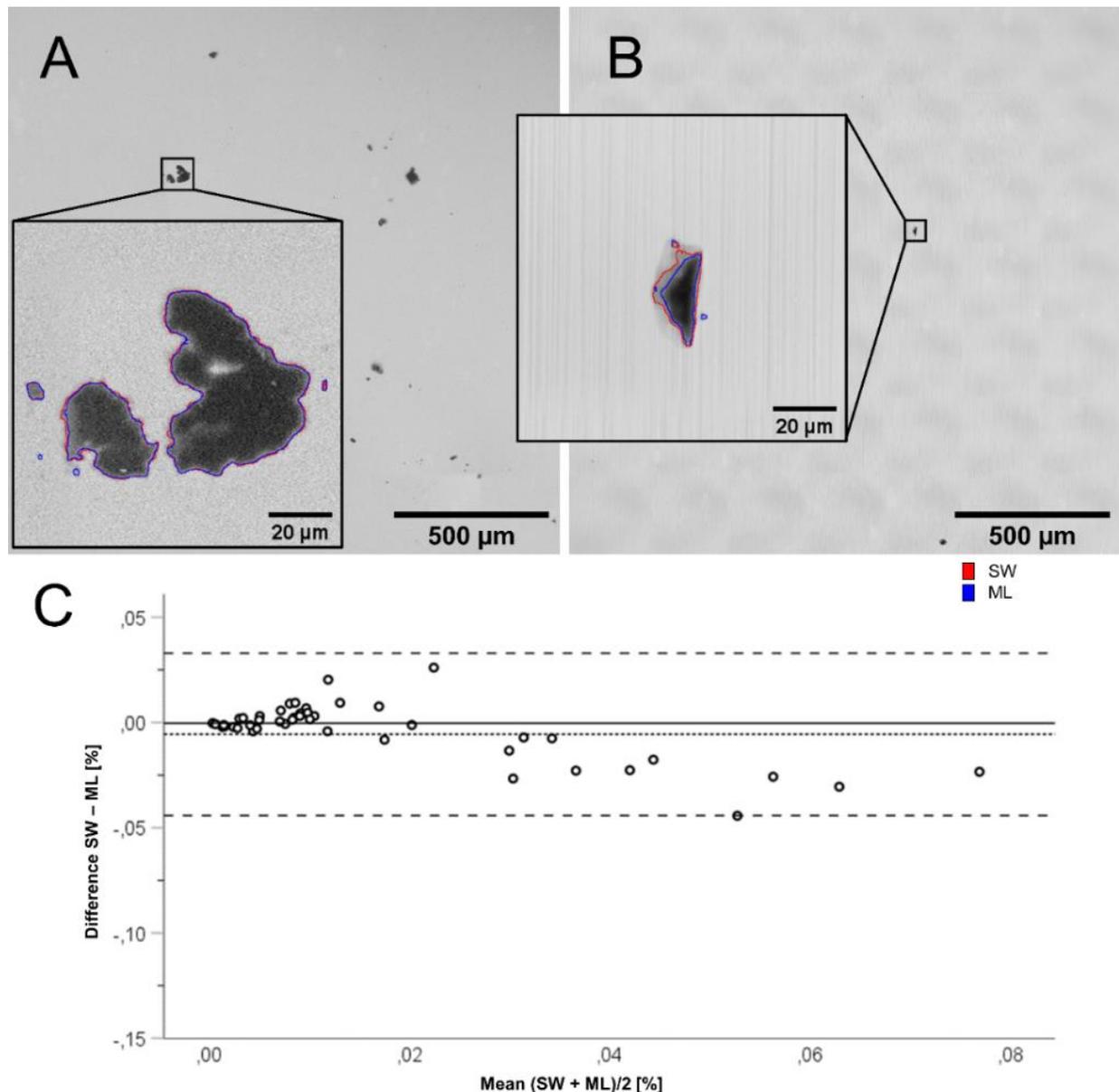


Abbildung 9: Bland-Altman-Diagramm

Methodikvergleich zur Detektion und Quantifizierung des Kontaminationsgrades durch zwei selbst entwickelte Messmethoden. Die vergrößerten quadratischen Ausschnitte zweier Beobachtungsfelder stellen die detektierten Kontaminationen als überlagerte Regions-of-Interest (ROIs) dar. Rote Eingrenzung = Schwellenwertmethode (SW), blaue Eingrenzung = überwachtetes maschinelles Lernen (ML). (A) und (B) exemplarische detektierte Kontaminationen; (C) Bland-Altman-Diagramm für beide Messmethoden ( $n = 49$ ). Die mittlere Differenz betrug  $-0,006\%$  (95 % Konfidenzintervall, KI von  $-0,0112\%$  bis  $0,0001\%$ ), dargestellt als fein gestrichelte schwarze Linie. Das Diagramm weist auf, dass die vertikale Streuung der Abweichung von der Höhe der Messwerte abhängig ist. Die Messmethode ML scheint ab  $0,03\%$  prinzipiell höhere Werte zu messen. Die „Limits of Agreement“ sind als gestrichelte schwarze Linien dargestellt ( $\pm 1,96$  SD), die  $0,033\%$  bzw.  $-0,044\%$  betragen. Quelle: Modifiziert nach Hofmann et al., 2023

### 3.4 EDX-Analyse

Die Elementanalyse aller Reinigungsgruppen durch EDX-Punktanalyse ist in der **Tabelle 5** zusammengefasst.

Tabelle 5: Deskriptive Zusammenfassung der EDX-Analysen

Lokalisation	Elementname	Elementsymbol	$N_P/N_{\text{Gesamt}}$	Mittelwert at. %	at. % <sub>min</sub> - at. % <sub>max</sub>
Punktanalysen aufliegender Elemente	Kohlenstoff	C	39/49	40,5	0 – 86,1
	Stickstoff	N	8/49	2,6	0 – 22,9
	Sauerstoff	O	48/49	42,1	0 – 82,3
	Fluor	F	3/49	1,5	0 – 30,7
	Natrium	Na	5/49	0,2	0 – 3,9
	Aluminium	Al	13/49	2,1	0 – 25,9
	Silicium	Si	17/49	2,8	0 – 17,5
	Phosphor	P	1/49	0,2	0 – 10,1
	Schwefel	S	8/49	1,1	0 – 11,2
	Chlor	Cl	5/49	0,7	0 – 13,9
	Kalium	K	4/49	0,5	0 – 10,2
	Calcium	Ca	13/49	1,2	0 – 8,6
	Titan	Ti	6/49	1,1	0 – 29,3
	Chrom	Cr	3/49	0,5	0 – 17,9
	Eisen	Fe	2/49	1,1	0 – 33,3
	Cobalt	Co	1/49	0,6	0 – 29,3
	Yttrium	Y	29/49	0,9	0 – 2,4
	Zirconium	Zr	48/49	10,7	0 – 25,3
	Molybdän	Mo	2/49	0,1	0 – 1,8
Punktanalysen Hintergrund	Sauerstoff	O	44/49	65,8	50,9 – 72,3
	Yttrium	Y	44/49	2,8	1,9 – 4,6
	Zirconium	Zr	44/49	31,4	25,3 – 44,5

Anmerkungen: Dezimalstellen wurden aufgerundet. P = Anzahl an positiven Punktanalysen für das jeweilige Element bezogen auf alle Reinigungsgruppen, at. % = Atomprozent. Quelle: Hofmann et al. (PRE-PRINT), 2023

Die Untersuchungsflächen von allen Reinigungsgruppen zeigten das Vorhandensein von vier Hauptelementen: Kohlenstoff (C), Sauerstoff (O), Zirconium (Zr) und Yttrium (Y), wobei die drei letztgenannten dem Grundwerkstoff der Zirkonoxidabutments zuzuordnen sind. Daneben konnten Spuren von Aluminium, Silicium und Calcium nachgewiesen werden, die größte Aluminiummenge betrug 25,9 at. % (24).

Um die empfangenen Röntgenquants der oberflächigen Kontaminationen von den Signalen des Untergrundmaterials zu trennen, wurde eine EDX-Differentialmessung vorgenommen, bei der Signale des nicht kontaminierten Abutmentmaterials von dem gemischten Signal der oberflächigen Kontamination abgezogen werden.

## 4 Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ziel dieser *in vitro* Studie war es, den durch laborseitige Fertigungsprozesse entstandenen Kontaminationsgrad auf transmukosalen Oberflächen individualisierter CAD/CAM Zirkonoxidabutments vor und nach bekannten klinischen Reinigungs- und Desinfektionsverfahren zu detektieren und quantitativ nachzuweisen (**Abbildung 2**). Einzelne Aufbereitungsverfahren sind bereits untersucht und gegenübergestellt worden (17-19, 22, 43). Die Detektionsmethode stand bislang jedoch nicht im Fokus der Forschung. In dieser Arbeit wurden mehrere dieser Reinigungsverfahren erneut untersucht, ein chemothermisches Verfahren vereinfacht durchgeführt (UD) und mit einer Gruppe mit unbekanntem Reinigungsverfahren (LA) und ungereinigten Abutments (NC) verglichen. Für die Beurteilung des Kontaminationsgrades wurde eine eigens dafür neu entwickelte Messmethode, gestützt auf überwachtetes maschinelles Lernen, verwendet (24, 42).

Die dargestellten Ergebnisse führen zur Ablehnung der einführend gestellten Nullhypothese. Die vorliegenden Daten konnten signifikante reinigungsspezifische Unterschiede aufzeigen (**Tabelle 3, Tabelle 4**). Die verschiedenen chemothermischen Reinigungen und Desinfektionen (CP, FP und UD) und die Plasmabehandlung (PL) erzielten die höchste Reinigungswirksamkeit mit dem geringsten detektierten Kontaminationsgrad (24). Dabei stellte sich der größte Unterschied im Kontaminationsgrad zwischen den Gruppen FP/NC, CP/NC, UD/NC und PL/NC dar. Kein Hygieneregime war in der Lage, die Kontaminationen vollständig zu entfernen. Mithilfe von EDX-Analysen wurde zeitgleich die chemische Zusammensetzung der Kontaminationen semiquantitativ analysiert (**Tabelle 5**).

Erstmals wurden mithilfe einer REM-Bildgebung Kontaminationen auf Abutmentoberflächen durch überwachtetes maschinelles Lernen segmentiert. Darüber hinaus wurde eine vergleichende Bildsegmentierung mit einer konventionellen Methode durchgeführt. Zum quantitativen Informationsabruf wurden beide Segmentierungsergebnisse in ein selbst entwickeltes Bildanalyseworkflow integriert (**Abbildung 5**). Im Methodenvergleich zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Messmethoden (asymptotischer Wilcoxon-Test:  $z = -1,24$ ,  $p = 0,22$ ,  $n = 49$ ). Dennoch war auffällig, dass die Abweichung der Messmethoden von der Höhe der Werte abhängig war (**Abbildung 9**). Ab einem Kontaminationsgrad  $> 0,03\%$  wurden durch ML höhere Werte gemessen (42).

## 4.2 Interpretation der Ergebnisse

### 4.2.1 Bildgebung und -analyse

Die REM-Bildgebung ist bereits ein valides Instrument für die morphologische Charakterisierung von Implantatoberflächen im Mikrometerbereich und hat sich als Goldstandard etabliert (55, 56). Jüngere Forschungen nutzten die REM-Bildgebung auch für die Charakterisierung von Abutmentoberflächen (17, 19). Nach derzeitigem Kenntnisstand fehlt jedoch eine etablierte Methode zur Überwachung und Messung der Oberflächensauberkeit von Implantataufbauten (24, 42). Kontaminationen wurden bisher durch manuelle Verfahren detektiert und in ihrem Gesamtaufreten gemessen (17, 18, 22, 43). Das Bland-Altman-Diagramm zeigt, dass die Messmethode ML ab einem Kontaminationsgrad  $> 0,03$  % höhere Werte misst, was die mittlere Differenz von  $-0,006$  % in der Methodenübereinstimmung erklärt (**Abbildung 9**). Die zur medianen Abweichung (fein gestrichelte Linie) korrespondierenden „Limits of Agreement“ (LoA) lagen bei  $0,033$  % und  $-0,044$  % (grob gestrichelte Linien). Da es sich bei keiner der neu entwickelten Messmethoden um eine etablierte Referenz handelt, ist es nicht einfach, die LoA einzuordnen (42). Auf der Grundlage der Literatur konnte kein LoA a priori auf der Basis biologischer Überlegungen definiert werden. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Unterschiede zwischen den beiden Messsystemen innerhalb der 95-prozentigen LoA liegen.

### 4.2.2 Reinigungs- und Desinfektionsverfahren

Im Mittelpunkt des Hygienemanagements benennt der Hygieneleitfaden des deutschen Arbeitskreises für Hygiene in der Zahnmedizin (DAHZ) den Zahnarzt als Kontrollinstanz für den hygienisch einwandfreien Zustand zahnärztlicher Werkstücke, insbesondere dann, wenn die Medizinprodukte (z. B. Implantatabutments) den zahnärztlichen Behandlungsbereich verlassen (26). Dabei steht der Anwender des Medizinproduktes (Zahnarzt) in der Verantwortung, ein Risikomanagement vor der Medizinproduktaufbereitung durchzuführen. Bei semikritisch eingestuften Medizinprodukten muss eine validierte Reinigung und Desinfektion erfolgen (16). Dabei wird die Verwendung kombinierter Reinigungs- und Desinfektionsverfahren in einem automatisierten Prozessablauf empfohlen (57). Die Ultraschallreinigung hat sich bereits als fester Bestandteil der Aufbereitung von (zahn-)medizinischen Instrumenten mit entsprechenden Empfehlungen etabliert (16, 26). Der Kavitationseffekt ist der Grund für die Reinigungswirksamkeit. Darüber hinaus wurde eine

mikrobiozide Wirksamkeit bei der Verwendung chemischer Desinfektionsmittel beobachtet, die die Zelladhäsion in der mukosalen Übergangszone positiv beeinflusste (25). Mehl et al. wiesen ebenfalls nach, dass die Verwendung von Desinfektionsmitteln in Kombination mit einer Ultraschallreinigung zu einer verbesserten anfänglichen Zelladhäsion sowohl auf Zirkonoxid als auch auf Titanlegierungen führte (33). Die positive Beeinflussung von adäquaten Aufbereitungsverfahren auf den periimplantären Attachmentkomplex könnten nicht nur auf die mikrobiozide Wirksamkeit zurückzuführen sein, sondern auch auf eine verbesserte Dekontamination der transmukosalen Abutmentoberflächen. Mit Blick auf die Dekontamination unterstreichen die vorliegenden Studienergebnisse die nachgewiesene Wirksamkeit von ultraschallbasierten Reinigungsverfahren in Kombination mit chemischen Desinfektionsmitteln und spiegeln sich auch in den Hygieneempfehlungen für Medizinprodukte wider (16, 26). Zudem sollte der Anwender sicherstellen, dass das Verpackungssystem für nicht sterile Medizinprodukte so beschaffen ist, „dass die Unversehrtheit und Reinheit des Produkts erhalten bleibt“, um die Dekontamination in der Transportkette nicht zu gefährden (15). Ungeklärt bleibt jedoch weiterhin die klinische Bedeutung verfahrenstechnischer Kontamination auf die periimplantäre Weichgewebsintegration und -barriere. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist diese Frage noch nicht hinreichend untersucht worden (38, 58).

*In vitro* Studien haben gezeigt, dass die 30-sekündige thermische Reinigung mit Wasserdampf verfahrenstechnisch aufgebrachte Kontaminationen reduzierte (17). Ferner waren die Zelladhäsionskräfte auf keramischen Oberflächen vergleichbar zu ultraschallbasierten Reinigungsverfahren und der Plasmabehandlung (33). Obwohl klinisch gebräuchlich, hebt Kern hervor, dass die Reinigung mit heißem Wasserdampf kein validiertes Reinigungs- und Desinfektionsverfahren darstellt (59). Dies wird gestützt durch eine Stellungnahme der DAHZ, in der die Autoren darauf hinweisen, dass durch die geringe Einwirkzeit einer thermischen Desinfektion keine ausreichende Desinfektionswirkung erzielt wird. Es wurde betont, dass die Desinfektionswirkung durch fehlende Inaktivierung bakterieller Sporen verfehlt wird (60). Die vorliegenden Daten konnten in der Gruppe SC eine Reinigungswirksamkeit feststellen, diese unterschied sich jedoch deutlich von ultraschallbasierten Systemen und der Plasmabehandlung (**Tabelle 3, Tabelle 4**).

In der Gruppe LA zeigte sich eine breite Spannweite der Daten mit dem größten Prozentsatz an kontaminierter Fläche (**Abbildung 7, Abbildung 8**). Dies deutet einerseits darauf hin, dass im derzeitigen Hygienemanagement zwischen Zahnarzt und zahntechnischem

Labor sehr heterogene Ansätze für die Endreinigung und -desinfektion bestehen. Andererseits waren die Reinigungsverfahren im zahntechnischen Labor weniger effektiv.

### 4.2.3 Plasmabehandlung

Nachweislich können Niederdruckplasmabehandlungen zur Oberflächenreinigung, -dekontamination und -modifikation eingesetzt werden (61). Auch wenn es sich bei der Plasmabehandlung derzeit um kein validiertes Aufbereitungsverfahren handelt, könnten dennoch einige Argumente für die Plasmabehandlung sprechen. Bestimmte Plasmaeigenschaften, wie z. B. die Modulation der Benetzbarkeit, wurden in der Vergangenheit im Hinblick auf die Verbesserung der periimplantären Weich- und Hartgewebsverhältnisse untersucht (30, 34, 62). Auch die Oberflächen von Implantataufbauten können durch verschiedene Arten plasmaaktiver Spezies (z. B. Radikale, UV-Licht, Ionen) wirksam antimikrobiell gereinigt werden, um die individualisierten Zirkonoxidabutments für eine Gewebeintegration vorzubereiten (61). *In vitro* Messungen von Zelladhäsionskräften konnten vergleichbare Zelladhäsionskräfte auf Zirkonoxidoberflächen sowohl nach Argonplasmabehandlung als auch nach Ultraschallreinigung dokumentieren (37). Zudem ist die Reinigungs- und Desinfektionswirkung an Titan(-abutments) bereits nachgewiesen worden (18, 31). Hinsichtlich der Oberflächenreinheit stimmen diese Ergebnisse mit den vorliegenden Daten überein (**Tabelle 5**), widersprechen aber den Daten von Farronato et al., die zeigten, dass die alleinige Verwendung von Argonplasma der Kombination mit vorheriger Ultraschallreinigung unterlegen war (22, 24). Gegen diesen Widerspruch kann eingewendet werden, dass die Bildsegmentierung durch visuelle Beurteilung eines Rasters erfolgte. Quadrate mit enthaltenen Kontaminationen wurden als positiv bewertet und dann prozentual ins Verhältnis gesetzt zur Gesamtanzahl der Quadrate im Raster. Dies könnte gegenüber der direkten Kontaminationsdetektion zu einer Ungenauigkeit geführt haben.

Die aktuelle Datenlage zur Modifizierung der Oberflächentopografie von Titan- und Zirkonoxidoberflächen durch die Anwendung von Argonplasma ist umstritten. Es wurden uneinheitliche Ergebnisse zur Oberflächenintegrität von Titanoberflächen wissenschaftlich dokumentiert (28, 31, 33). Veränderungen auf Zirkonoxidoberflächen konnten bisher nicht nachgewiesen werden. Die verschiedenen Ergebnisse könnten einerseits auf Variationen in den definierten Prozessparametern (Druck, Gasart, Generatorleistung) und andererseits auf die Dauer der Plasmaanwendung zurückzuführen sein. Die vorliegenden

Studienergebnisse deuten darauf hin, dass die Plasmabehandlung die implantatprothetischen Oberflächen zuverlässig dekontaminiert und somit dazu beiträgt, das Implantat-Abutment-Interface bestmöglich für die Gewebsintegration vorzubereiten (24). Der positive Einfluss von (Niederdruck-) Plasma auf physikalische Eigenschaften der Oberfläche, wie z.B. die höhere Benetzbarkeit, ist mit der Zeit reversibel. Eine unmittelbare Anwendung (chairside) vor der Insertion sollte erfolgen, jedoch ist die Anwendung erschwert durch hohe Anschaffungskosten. Dies könnte zu einer begrenzten Akzeptanz als implantatprothetisches Aufbereitungsverfahren führen.

#### **4.2.4 Der Einfluss von Aufbereitungsverfahren auf die Stabilität des Klebeverbundes zweiteiliger Abutments**

Bei der Verklebung von zweiteiligen Implantataufbauten werden konventionell chemisch härtende und dualhärtende Befestigungszemente als Goldstandard empfohlen (14, 63). Für einen dauerhaften Verbund des CAD/CAM-Hybridanteils aus Zirkonoxid mit der Titanklebebasis können klare Empfehlungen für die Oberflächenkonditionierung gegeben werden (44, 45). Einige Studien haben gezeigt, dass weder die Oberflächenpolitur noch verschiedene Aufbereitungsverfahren - oder die für kritische Medizinprodukte erforderliche Sterilisation - die Zugfestigkeit von zweiteiligen Implantataufbauten beeinträchtigen (10, 14, 21). Nach Dampfsterilisation wurden sogar verbesserte mechanische Eigenschaften bei chemisch härtenden Zementen beobachtet (21). In Studien zur mechanischen Langzeitstabilität von zweiteiligen Implantataufbauten nach *in vitro* Alterungsprozessen wurden jedoch uneinheitliche Effekte auf die mechanische Stabilität des Klebeverbundes beobachtet (45, 64). Es bleibt festzuhalten, dass bei Einhaltung definierter Zementierungsprotokolle die Stabilität des Verbunds ausreichen sollte, um den Kaukräften standzuhalten.

Die Einstellung optimaler Oberflächenrauheit ( $R_a=0,20 \mu\text{m}$ ) durch abgestufte Schleifwerkzeuge konnte bereits als Polierprotokoll auf Zirkonoxid umgesetzt werden (41). Eine genauere visuelle Inspektion der Grenzflächen unserer zweiteiligen Abutments ergab jedoch, dass alle industriell gefertigten Titanklebebasen neben den typischen parallelen Rillen aus zentralen Fertigungsprozessen auch unregelmäßige Vertiefungen sowie Ein- und Auflagerungen im Bereich der Klebefuge aufwiesen (**Abbildung 10**).

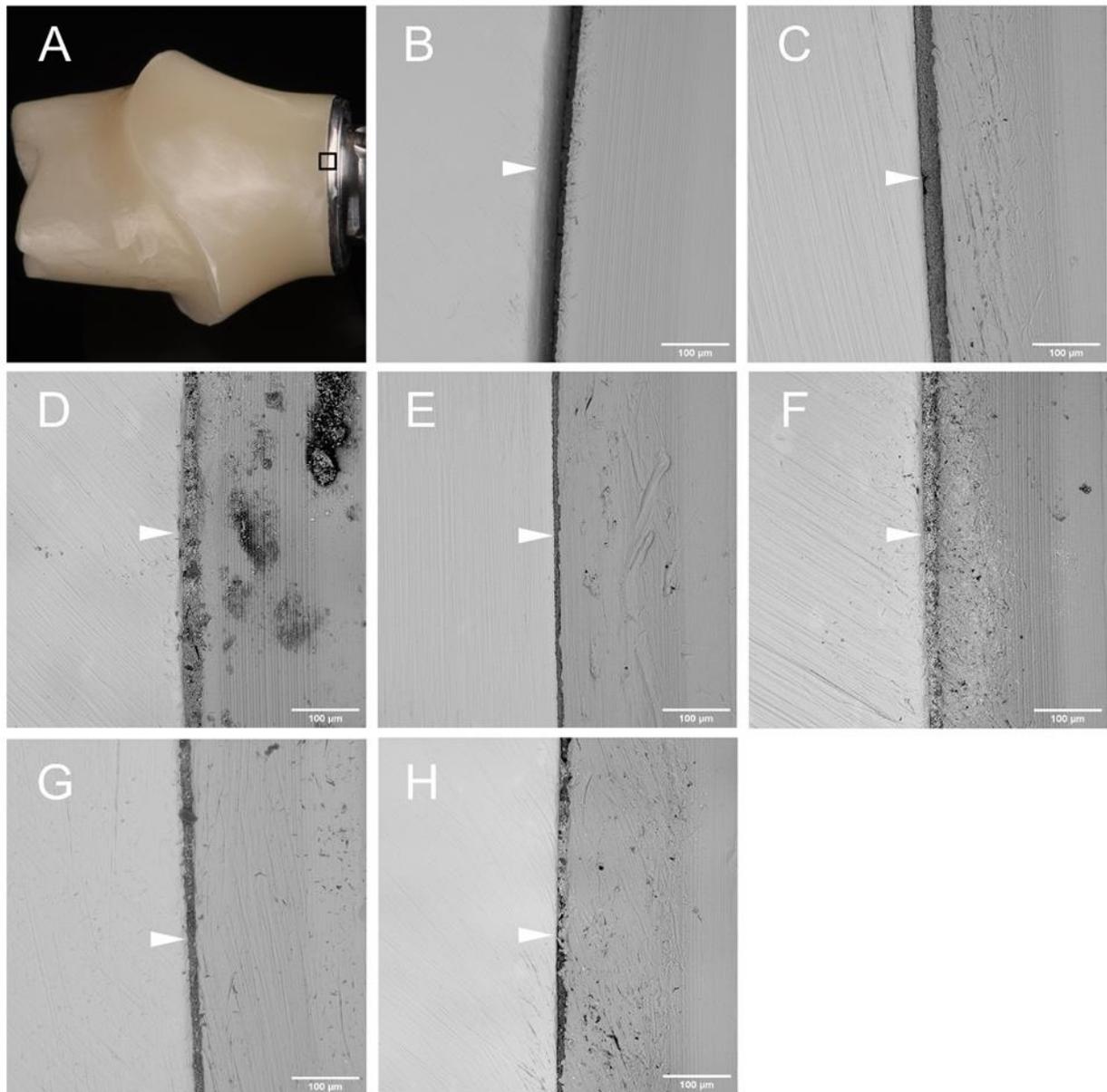


Abbildung 10: Aufsicht exemplarischer Klebefugen aus allen Reinigungsgruppen

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Klebeverbindung nach verschiedenen Reinigungs- und Desinfektionsverfahren (500-fache Vergrößerung, 537 µm FOV), Pfeilmarkierung auf der Klebefuge: (A) Navigationskamera: quadratische Bereichsauswahl an der Grenzfläche zwischen Zirkonoxidhybridanteil, Klebefuge und Titanklebebasis, (B) Gruppe CP, (C) Gruppe FP, (D) Gruppe NC, (E) Gruppe SC, (F) Gruppe PL, (G) Gruppe LA, (H) Gruppe UD. Quelle: Hofmann et al. (PREPRINT), 2023

Diese Aufrauhungen und Kontaminationen könnten auf die Fertigungsprozesse im zahn-technischen Labor zurückzuführen sein (Strahlgutrückstände aus mechanischer Vorbe-handlung mit Aluminiumoxidpartikeln (APA), Rückstände aus Verklebung und Keramik-polierern) (17, 24). Je nach Reinigungsverfahren konnte eine unterschiedlich gute De-kontamination beobachtet werden. Bei den Proben, die dem Reinigungsprotokoll mit ace-

tonhaltiger Reinigungsflüssigkeit im Ultraschallbad zugeführt wurden (CP), löste sich teilweise die Klebeverbindung auf (**Abbildung 10, B**). Während frühere Studien an Reintitanoberflächen keine Unterschiede in der Oberflächentopografie nach vergleichbaren Reinigungsverfahren zeigten, müssen negative Auswirkungen auf die Verbundstabilität von zweiteiligen Implantataufbauten zum jetzigen Zeitpunkt noch verifiziert werden (24, 28).

### 4.3 Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand

#### 4.3.1 Quantitativer Nachweis verfahrenstechnischer Kontaminationen

Die Wirksamkeit von verschiedenen Reinigungs- und Desinfektionsverfahren (**Abbildung 7, Abbildung 8, Tabelle 3, Tabelle 4**) bestätigen die Ergebnisse früherer Untersuchungen an Abutments (Titan, Zirkonoxid) (17, 18, 43). Titanabutments, die ohne eine abschließende Reinigung und Desinfektion untersucht wurden, wiesen in vorausgehenden Untersuchungen einen Kontaminationsgrad von 0,057 % auf (17). Diese Ergebnisse spiegeln sich in der untersuchten Gruppe NC mit 0,041 % und 0,065 % wider (**Tabelle 2**) (24). Wurden die Abutmentoberflächen zusätzlich einer 30-sekündigen thermischen Reinigung mit Wasserdampf unterzogen, belegten frühere Untersuchungen einen reduzierten Kontaminationsgrad von 0,040 % im Bereich des Emergenzprofils und 0,012 % im Bereich des Implantat-Abutment-Interfaces (17). Im Vergleich dazu konnte in der Gruppe SC durch beide Messmethoden ein geringerer Kontaminationsgrad von 0,014 % im Bereich des Emergenzprofils gemessen werden (24). Die von den aktuellen Daten aus der Gruppe CP, FP und UD abweichenden *in vitro* Ergebnisse von Canullo et al. aus dem Jahr 2014 und die Messwerte von Gehrke et al. aus dem Jahr 2020 könnten durch unterschiedliche Bilddatenverarbeitung und -analyse, sowie durch die verschiedenen verwendeten Materialien bedingt sein. Nach der Anwendung einer mehrstufigen Ultraschallreinigung von einteiligen Titanabutments konnte Canullo et al. mit 0,0007 % die wirksamste Dekontamination messen (18). Hybridabutments zeigten hingegen erhöhte Kontaminationsprozentanteile von 0,02 % (Lithiumdisilikat und Titanbasis) und 0,08 % (Zirkonoxid und Titanbasis) (43). Die erhöhten Messwerte bei zweiteiligen Implantatabutments stehen im Einklang mit den vorliegenden Ergebnissen in den Gruppen CP (0,008 % und 0,006 %), FP (0,007 % und 0,003 %) und UD (0,010 % und 0,011 %) (**Tabelle 2**) (24). Die erhöhten

Messwerte bei zweiteiligen Abutments im Vergleich zu einteiligen Titanabutments könnten auf die komplexeren Herstellungsprozesse im zahnmedizinischen Labor zurückzuführen sein. Obwohl manuell erfasst, liefern die verschiedenen Expertenannotationen vorangegangener Studien zur Kontaminationsdetektion vergleichbare Ergebnisse wie die neu entwickelten Messmethoden.

#### 4.3.2. Semiquantitative chemische Oberflächenanalyse (EDX)

Die EDX-Analyse detektierte bei allen Proben ähnliche Anteile von Sauerstoff-, Zirkonium- und Yttriumsignale, da die Oberfläche hauptsächlich aus Yttrium-stabilisierter Zirkonoxidkeramik bestand. Dies spiegelt sich auch in den Angaben des Herstellers wider (**Tabelle 1**). Kohlenstoffhaltige Kontaminationen im molekularen Bereich (z. B. aus der Umgebungsluft oder der Verpackung) können mit der hier verwendeten spektroskopischen Elementenuntersuchung (EDX) nicht nachgewiesen werden (56). Auf der Zirkonoxidoberfläche konnten wir jedoch bei fast allen Messungen kohlenstoffhaltige Partikel im Mikrometerbereich nachweisen (24). Das dominierende mittlere Kohlenstoffsignal von 40,5 at. % steht im Einklang zu den detektierten organischen Kontaminationen von Sawase et. al und Canullo et. al (18, 27). Gelegentlich wurden folgende Elemente in geringen Mengen beobachtet: Silizium, Aluminium, Kalzium und Stickstoff (**Tabelle 5**). Signifikante Ablagerungen anderer Kontaminationen, die nachgewiesen werden konnten, traten nur selten und in minimalen Mengen auf ( $\leq 1$  at. %). Einzelne subtrahierte Spektren identifizierten die aufliegenden Kontaminationen als metallische Partikel (**Abbildung 11**). Die detektierten Elemente und ihre chemische Zusammensetzung stimmen mit früheren Ergebnissen spektroskopischer Untersuchungen überein (19, 22, 27, 43). Kontaminationsrückstände könnten einerseits während des Herstellungsprozesses aufgebracht, andererseits durch Reinigungsrückstände aus der Endreinigung verursacht worden sein. Die EDX-Punkt-Analysen schränken jedoch die quantitative Aussagekraft ein und erlauben keine Zuordnung der chemischen Zusammensetzung zu einzelnen Reinigungsverfahren; ferner ist die EDX-Analyse nur ein Hilfsmittel zur morphologischen Charakterisierung (56). Aus biologischer und immunologischer Perspektive bleibt zu klären, wie sich verfahrenstechnische Kontaminationen auf die Stabilität der periimplantären Weichgewebsbarriere und das periimplantäre Knochenniveau auswirken. Frühere Ergebnisse stellten fest, dass Titanmikropartikel *in vivo* als Adjuvans wirken und eine robuste TH2-Immunantwort stimulierten (22, 31).

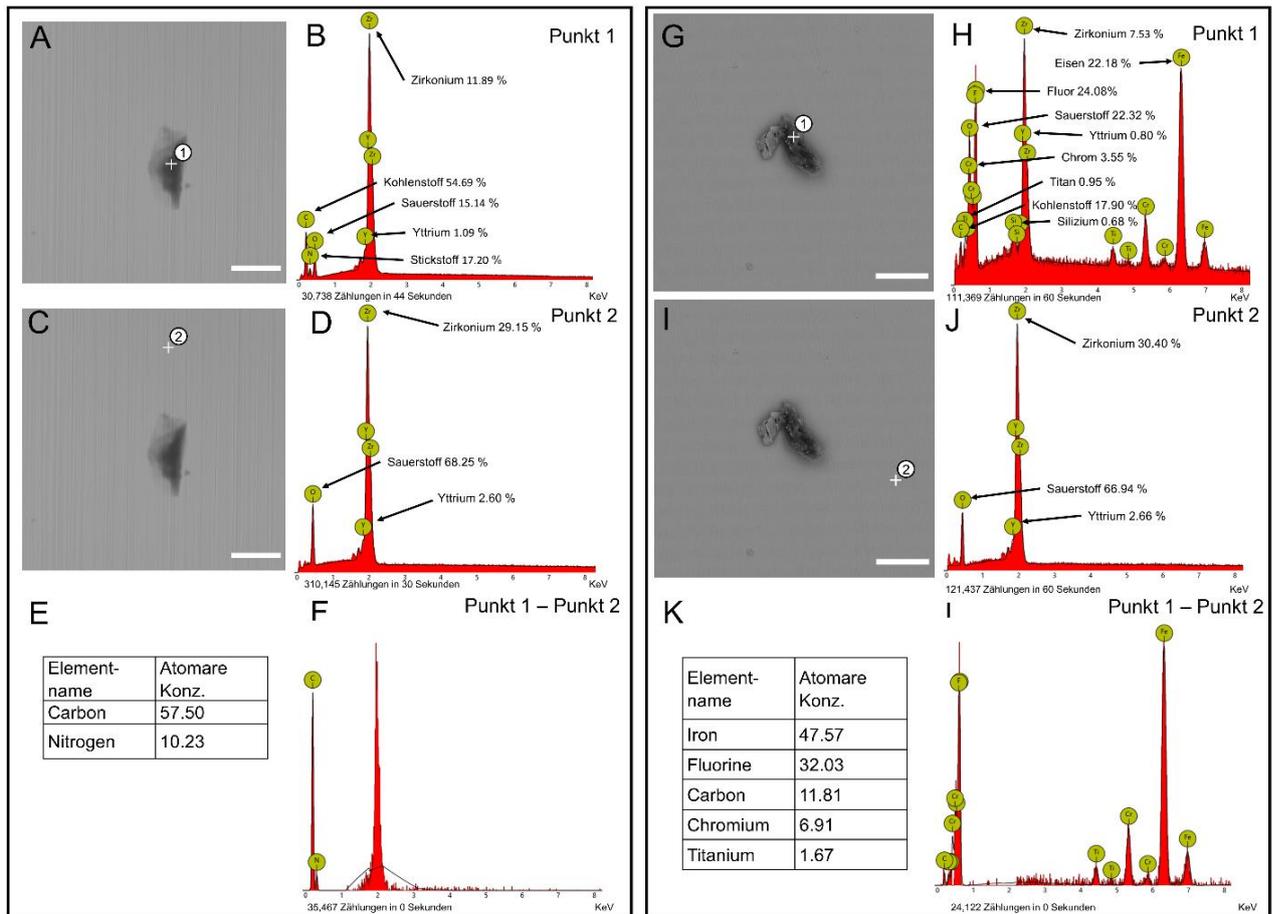


Abbildung 11: Exemplarische EDX-Analyseergebnisse

Elementzusammensetzung verschiedener Kontaminationen und der Hintergrundzusammensetzung (Yttrium-stabilisiertes Zirkonoxid) mit Phenom ProX-REM-EDX, Messpunkte sind mit Kreuz und Nummer gekennzeichnet, Prozentangaben in Atomprozent (at. %) : (A-F) Exemplarische Probe aus der Gruppe NC: (B) zeigt das EDX-Spektrum für die Spotanalyse Punkt 1, (D) zeigt das EDX-Spektrum für die Spotanalyse Punkt 2, (E-F) subtrahierte Spektren der Probe: Spektrum 1 - Spektrum 2; (G-L) Exemplarische Probe aus der Gruppe LA, (H) zeigt das EDX-Spektrum für die Spotanalyse Punkt 1, (J) zeigt das EDX-Spektrum für die Spotanalyse Punkt 2, (K-L) subtrahierte Spektren für die Probe: Spektrum 1 - Spektrum 2. Die Maßstabsbalken sind 20 Mikrometer groß. Quelle: Adaptiert nach Hofmann et. al (PREPRINT), 2023

#### 4.4 Stärken und Schwächen der Studie

Die durch künstliche Intelligenz (KI) gestützte Bilddatenanalyse und -auswertung hat im letzten Jahrzehnt einen enormen Entwicklungsschub erfahren - auch in der medizinischen Bildgebung. Erste klinische Ansätze in der Zahnmedizin, die auf maschinellem Lernen basieren, sind inzwischen verfügbar (65). Vor allem Deep-Learning-Ansätze wie Convolutional Neural Networks (CNN) liefern derzeit die besten Segmentierungsergebnisse im maschinellen Lernen. Die Leistung der Modelle basiert jedoch auf großen Men-

gen von Trainingsdaten und Rechenressourcen (50, 66). Überwachtes maschinelles Lernen durch einen trainierten Random-Forest-Klassifikator stellt einen Kompromiss für die Bewertung verschiedener Kontaminationen auf zweiteiligen Implantatabutments dar (42). Integriert in ein einfaches Programm, das eine Reihe von Befehlen automatisiert, hat der Workflow den Vorteil, dass er Reproduzierbarkeit gewährleistet sowie das Training (interaktives Lernen durch Live-Aktualisierung der Benutzerannotationen) als auch die Auswertung beschleunigt. Ferner kann der Auswertungsprozess auf handelsüblichen Computern ausgeführt werden. Nachteilig muss festgehalten werden, dass die Klassifizierung (welcher Bildpixel gehört zu welcher Klasse) nur auf den ausgewählten Merkmalen, ihrer Ausprägung und den eingespeisten Trainingsdaten beruht (50). In der vorliegenden Untersuchung waren die Trainingsdaten limitiert und die Benutzerannotationen erfolgten nur durch einen Anwender.

Die globale Schwellenwertmethode ist im Vergleich zum maschinellen Lernen ein starrer Algorithmus zur Bildsegmentierung, bietet aber den Vorteil, dass die Methode durch eine einfache Anwendung schnell implementiert werden kann. Andererseits muss man berücksichtigen, dass die Klassenzuordnung von Hintergrund (Zirkonoxidoberfläche) und Kontamination durch das eindimensionale Merkmal des Grauwerts durch einen Schwellenwert entschieden wird. Kontaminationen, deren Helligkeit oberhalb des Schwellenwertes liegt, fallen somit durch das Raster und werden fälschlicherweise dem Hintergrund zugeordnet. Zudem zeigte sich, dass auch Aufrauhungen z. T. fälschlicherweise den Kontaminationen zugeordnet wurden. Dies könnte den Unterschied im Kontaminationsgrad erklären, der im Messmethodenvergleich festgestellt wurde.

Die wichtigste Einschränkung für die Verallgemeinerbarkeit der vorliegenden Ergebnisse ist die begrenzte Anzahl an Proben, die unizentrische Datenerhebung und die Verwendung einer einzelnen Materialklasse. Die Begrenzung der Probenzahl auf sieben pro Untersuchungsgruppe basierte zum einen auf dem Ergebnis, dass bereits ein signifikanter Unterschied zwischen einzelnen Reinigungsmethoden herausgearbeitet werden konnte (18, 19, 43). Zum anderen stand die Anzahl der Proben in einem angemessenen Verhältnis zum Aufwand und den Kosten dieser Studie. Die Ergebnisse sind möglicherweise nicht auf Implantataufbauten aus Titan oder anderen keramischen Werkstoffen übertragbar. Darüber hinaus stellt sich die Frage, ob die Robustheit der Daten durch Schwankungen in der Signalqualität der REM-Aufnahmen beeinträchtigt worden sein könnte. Trotz Vorverarbeitung des Datensatzes zur Reduzierung des Signal-Rausch-Verhältnisses

(SNR) konnten nicht alle Rauschartefakte im Testdatensatz eliminiert werden. Eine externe Validierung durch manuelle Annotation von ungesehenen REM-Montagebildern als Testdatensatz "Out of the bag" im Vergleich zum trainierten Klassifikator wäre vielversprechend, aber sehr zeitaufwendig gewesen und hätte den Rahmen dieser Arbeit gesprengt. Nichtsdestotrotz zeigten sich bei der Klassifikation der gesammelten Daten vergleichbare Messwerte zu den vorhergehenden manuellen Expertenannotationen (24).

#### **4.5 Implikationen für Praxis und zukünftige Forschung**

Die Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit eines risikoadaptierten Hygienemanagements (unter Berücksichtigung der Risikostufen) für Medizinprodukte im Bereich der Implantatprothetik. Zusammenfassend kann für die Praxis festgestellt werden:

- Das Management verfahrenstechnischer Kontaminationen sollte bei semikritisch eingestuften Medizinprodukten (z. B. Implantataufbauten) innerhalb eines validierten Aufbereitungsverfahrens erfolgen.
- Nach derzeitigem Stand der Forschung kann eine wirksame Reinigung durch ein- oder mehrstufige Ultraschalltauchbäder in Kombination mit geeigneten chemischen Desinfektionsmitteln erzielt werden. Eine Aufbereitung durch Niederdruckplasmabehandlung ist schwieriger in der Umsetzung, kann jedoch erwogen werden.
- Acetonhaltige Reinigungsflüssigkeiten sollten bei zweiteiligen Implantatabutments nicht verwendet werden. Ihr Einfluss auf die Stabilität des adhäsiven Verbundes sollte in Zukunft weiter untersucht werden.
- Das Management von semikritischen Medizinprodukten unterstützt auch das Management kritischer Medizinprodukte durch geeignete Vorreinigung und Desinfektion; zusätzlich sollte das Medizinprodukt einem geeigneten Sterilisationsverfahren zugeführt werden.
- Wenn Implantataufbauten den zahnärztlichen Behandlungsbereich verlassen, kann ein Aufbereitungsprotokoll zwischen Zahnarztpraxis und zahntechnischem Labor das Hygienemanagement vereinfachen.

Mit Blick auf zukünftige Forschungen im Bereich der Implantatprothetik kann festgehalten werden:

- Die Charakterisierung von Abutmentoberflächen sollte mittels rasterelektronenmikroskopischer (REM) Bildgebung erfolgen.
- Bei der Bildverarbeitung und -analyse sollten reproduzierbare Arbeitsabläufe verwendet werden.
- Für die Entwicklung eines Verfahrens zur Überwachung und Messung des Kontaminationsgrades könnte ein KI-gestütztes Bewertungsinstrument auf der Basis von Deep Learning in Betracht gezogen werden. Hierfür wäre ein multizentrischer Datensatz von metallischen und keramischen Implantatabutments im größeren Umfang vorteilhaft.
- Dem Forschungsdefizit eines Zusammenhangs zwischen verfahrenstechnischen Kontaminationen auf implantatprothetischen Oberflächen und biologischen Komplikationen (periimplantäre Mukositis, Periimplantitis) sollte zukünftig nachgegangen werden.

## 5 Schlussfolgerungen

Die in dieser Arbeit dargelegten Ergebnisse zeigen einerseits, dass die Wahl des Reinigungs- und Desinfektionsverfahrens einen signifikanten Einfluss auf die Oberflächenreinheit von Medizinprodukten hat, die während des Herstellungsprozesses Kontaminationen ausgesetzt sind. Zum anderen konnte gezeigt werden, dass eine reproduzierbare KI-gestützte Bildverarbeitung und -analyse an implantatprothetischen Medizinprodukten möglich ist. Eine vollständige Dekontamination der transmukosalen Oberflächen von CAD/CAM-gefertigten Zirkonoxidabutments konnte mit keinem Reinigungsverfahren erzielt werden. Neben der ultraschallbasierten Reinigung mit chemischen Desinfektionsmitteln führte auch die Reinigung mittels Plasmabehandlung zu einer signifikanten Reduktion des Kontaminationsgrades.

Die Implementierung einer standardisierten REM-Bildgebung mit Bildsegmentierung durch maschinelles Lernen ist ein vielversprechendes Bewertungsinstrument, um ein geeignetes Verfahren zur Überwachung und Messung des Kontaminationsgrades zu entwickeln. Insbesondere Qualitätsmanagementsysteme industrieller Hersteller von implantologischen und implantatprothetischen Komponenten könnten von KI-gestützten Überwachungsverfahren profitieren.

## Literaturverzeichnis

1. Welander M, Abrahamsson I, Berglundh T. The mucosal barrier at implant abutments of different materials. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(7):635-41.
2. Abrahamsson I, Berglundh T, Glantz PO, Lindhe J. The mucosal attachment at different abutments. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 1998;25(9):721-7.
3. Pitta J, Zarauz C, Pjetursson B, Sailer I, Liu X, Pradies G. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Influence of Abutment Material on Peri-implant Soft Tissue Color Measured Using Spectrophotometry. *Int J Prosthodont.* 2020;33(1):39-47.
4. Jung RE, Sailer I, Hämmerle CH, Attin T, Schmidlin P. In vitro color changes of soft tissues caused by restorative materials. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007;27(3):251-7.
5. Ishikawa-Nagai S, Da Silva JD, Weber HP, Park SE. Optical phenomenon of peri-implant soft tissue. Part II. Preferred implant neck color to improve soft tissue esthetics. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(5):575-80.
6. Beuer F, Schweiger J, Edelhoff D. Digital dentistry: an overview of recent developments for CAD/CAM generated restorations. *Br Dent J.* 2008;204(9):505-11.
7. Zembic A, Bösch A, Jung RE, Hämmerle CH, Sailer I. Five-year results of a randomized controlled clinical trial comparing zirconia and titanium abutments supporting single-implant crowns in canine and posterior regions. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(4):384-90.
8. Canullo L. Clinical outcome study of customized zirconia abutments for single-implant restorations. *Int J Prosthodont.* 2007;20(5):489-93.
9. Glauser R, Sailer I, Wohlwend A, Studer S, Schibli M, Schärer P. Experimental zirconia abutments for implant-supported single-tooth restorations in esthetically demanding regions: 4-year results of a prospective clinical study. *Int J Prosthodont.* 2004;17(3):285-90.
10. Gehrke P, Alius J, Fischer C, Erdelt KJ, Beuer F. Retentive strength of two-piece CAD/CAM zirconia implant abutments. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014;16(6):920-5.

11. Stimmelmayr M, Edelhoff D, Güth J-F, Erdelt K, Happe A, Beuer F. Wear at the titanium–titanium and the titanium–zirconia implant–abutment interface: A comparative in vitro study. *Dental Materials*. 2012;28(12):1215-20.
12. Baldassarri M, Hjerppe J, Romeo D, Fickl S, Thompson VP, Stappert CF. Marginal accuracy of three implant-ceramic abutment configurations. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012;27(3):537-43.
13. Happe A, von Glasser GS, Neugebauer J, Strick K, Smeets R, Rutkowski R. Clinical performance of zirconia implant abutments luted to a titanium base - a retrospective cross-sectional study. *Int J Comput Dent*. 2022;25(1):37-45.
14. Wiedenmann F, Liebermann A, Spintzyk S, Eichberger M, Stawarczyk B. Influence of Different Cleaning Procedures on Tensile Bond Strength Between Zirconia Abutment and Titanium Base. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2019;34(6):1318-27.
15. Consolidated text: Regulation (EU) 2017/745 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on medical devices, amending Directive 2001/83/EC, Regulation (EC) No 178/2002 and Regulation (EC) No 1223/2009 and repealing Council Directives 90/385/EEC and 93/42/EEC. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2017/745/2020-04-242017>.
16. Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*. 2012;55(10):1244-310.
17. Canullo L, Micarelli C, Iannello G. Microscopical and chemical surface characterization of the gingival portion and connection of an internal hexagon abutment before and after different technical stages of preparation. *Clin Oral Implants Res*. 2013;24(6):606-11.
18. Canullo L, Micarelli C, Lembo-Fazio L, Iannello G, Clementini M. Microscopical and microbiologic characterization of customized titanium abutments after different cleaning procedures. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25(3):328-36.
19. Gehrke P, Tabellion A, Fischer C. Microscopical and chemical surface characterization of CAD/CAM zirconia abutments after different cleaning procedures. A qualitative analysis. *J Adv Prosthodont*. 2015;7(2):151-9.
20. Speelman JA, Collaert B, Klinge B. Evaluation of different methods to clean titanium abutments. A scanning electron microscopic study. *Clin Oral Implants Res*. 1992;3(3):120-7.

21. Fadanelli MA, Amaral FL, Basting RT, Turssi CP, Sotto-Maior BS, França FM. Effect of Steam Autoclaving on the Tensile Strength of Resin Cements Used for Bonding Two-Piece Zirconia Abutments. *J Oral Implantol.* 2017;43(2):87-93.
22. Farronato D, Fumagalli D, Asa'ad F, Rasperini G. Decontamination of Customized Laser-Microtextured Titanium Abutments: A Comparative in Vitro Study of Different Cleaning Procedures. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2018;38(5):e87–e95.
23. Canullo L, Tallarico M, Chu S, Peñarrocha D, Özcan M, Pesce P. Cleaning, Disinfection, and Sterilization Protocols Employed for Customized Implant Abutments: An International Survey of 100 Universities Worldwide. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2017;32(4):774–8.
24. Hofmann P, Kunz A, Schmidt F, Beuer F, Duddeck D. Influence of exposure of customized dental implant abutments to different cleaning procedures: an in vitro study using AI-assisted SEM/EDS analysis. *Research Square.* 2023;0(0):0.
25. Jatzwauk L, Schöne H, Pietsch H. How to improve instrument disinfection by ultrasound. *J Hosp Infect.* 2001;48 Suppl A:S80-3.
26. Hygieneleitfaden. Deutscher Arbeitskreis für Hygiene in der Zahnmedizin (Hrsg):. 2022;15. Ausgabe.
27. Sawase T, Wennerberg A, Hallgren C, Albrektsson T, Baba K. Chemical and topographical surface analysis of five different implant abutments. *Clinical Oral Implants Research.* 2000;11(1):44-50.
28. Park JH, Olivares-Navarrete R, Baier RE, Meyer AE, Tannenbaum R, Boyan BD, et al. Effect of cleaning and sterilization on titanium implant surface properties and cellular response. *Acta Biomater.* 2012;8(5):1966-75.
29. Aronsson BO. On Argon-plasma cleaning - some comments from regulatory and scientific perspectives. *Eur J Oral Implantol.* 2015;8(3):211-2.
30. Garcia B, Camacho F, Peñarrocha D, Tallarico M, Perez S, Canullo L. Influence of plasma cleaning procedure on the interaction between soft tissue and abutments: a randomized controlled histologic study. *Clin Oral Implants Res.* 2016.
31. Aronsson BO, Lausmaa J, Kasemo B. Glow discharge plasma treatment for surface cleaning and modification of metallic biomaterials. *J Biomed Mater Res.* 1997;35(1):49-73.
32. Piest C, Wille S, Strunskus T, Polonskyi O, Kern M. Efficacy of Plasma Treatment for Decontaminating Zirconia. *J Adhes Dent.* 2018;20(4):289-97.

33. Mehl C, Kern M, Zimmermann A, Harder S, Huth S, Selhuber-Unkel C. Impact of Cleaning Procedures on Adhesion of Living Cells to Three Abutment Materials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2017;32(5):976-84.
34. Canullo L, Tallarico M, Penarrocha M, Corrente G, Fiorellini J, Penarrocha D. Plasma of Argon Cleaning Treatment on Implant Abutments in Periodontally Healthy Patients: Six Years Postloading Results of a Randomized Controlled Trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2017;37(5):683-90.
35. Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implants Res*. 1991;2(2):81-90.
36. Sculean A, Gruber R, Bosshardt DD. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *J Clin Periodontol*. 2014;41 Suppl 15:S6-22.
37. Fischer NG, Aparicio C. Junctional epithelium and hemidesmosomes: Tape and rivets for solving the “percutaneous device dilemma” in dental and other permanent implants. *Bioactive Materials*. 2022;18:178-98.
38. Mishra PK, Wu W, Rozo C, Hallab NJ, Benevenia J, Gause WC. Micrometer-sized titanium particles can induce potent Th2-type responses through TLR4-independent pathways. *J Immunol*. 2011;187(12):6491-8.
39. Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clin Oral Implants Res*. 1996;7(3):201-11.
40. Quirynen M, Bollen CM, Papaioannou W, Van Eldere J, van Steenberghe D. The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1996;11(2):169-78.
41. Happe A, Röling N, Schäfer A, Rothamel D. Effects of different polishing protocols on the surface roughness of Y-TZP surfaces used for custom-made implant abutments: a controlled morphologic SEM and profilometric pilot study. *J Prosthet Dent*. 2015;113(5):440-7.
42. Hofmann P, Kunz A, Schmidt F, Beuer F, Duddeck D. Segmentation of process-related contaminations on two-piece abutments using pixel-based machine learning. A new quantification approach? *Int J Comput Dent*. 2023;0(0):0.
43. Gehrke P, Abazari C, Schlichter K, Fischer C, Duddeck D, Romanos GE, et al. Qualitative and Semi-Quantitative Assessment of Processing-Related Surface Contamination of One- and Two-Piece CAD/CAM Abutments before and after Ultrasonic Cleaning. *Materials (Basel)*. 2020;13(14).

44. Kern M. Controlled airborne-particle abrasion of zirconia ceramic restorations. *J Prosthet Dent.* 2010;103(2):127-8.
45. Hansen NA, Wille S, Kern M. Effect of reduced airborne-particle abrasion pressure on the retention of zirconia copings resin bonded to titanium abutments. *J Prosthet Dent.* 2020;124(1):60-7.
46. Boyde A. Scanning Electron Microscopy of Bone. *Methods Mol Biol.* 2019;1914:571-616.
47. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods.* 2012;9(7):676-82.
48. C. Sommer CS, U. Köthe and F. A. Hamprecht. Ilastik: Interactive learning and segmentation toolkit. *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro.* 2011.
49. Tu Z, Bai X. Auto-context and its application to high-level vision tasks and 3D brain image segmentation. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell.* 2010;32(10):1744-57.
50. Berg S, Kutra D, Kroeger T, Straehle CN, Kausler BX, Haubold C, et al. ilastik: interactive machine learning for (bio)image analysis. *Nat Methods.* 2019;16(12):1226-32.
51. Breiman L. Random Forests. *Machine Learning.* 2001;45(1):5-32.
52. Bylander T. Estimating Generalization Error on Two-Class Datasets Using Out-of-Bag Estimates. *Machine Learning.* 2002;48(1):287-97.
53. Huang L-K, Wang M-JJ. Image thresholding by minimizing the measures of fuzziness. *Pattern Recognition.* 1995;28(1):41-51.
54. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012;9(7):676-82.
55. Kang BS, Sul YT, Oh SJ, Lee HJ, Albrektsson T. XPS, AES and SEM analysis of recent dental implants. *Acta Biomater.* 2009;5(6):2222-9.
56. Dohan Ehrenfest DM, Coelho PG, Kang BS, Sul YT, Albrektsson T. Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. *Trends Biotechnol.* 2010;28(4):198-206.
57. Zahn technische Laboratorien - Schutz vor Infektionsgefahren: DGUV; 2017. Available from: <https://publikationen.dguv.de/widgets/pdf/download/article/535>.

58. Canullo L, Penarrocha D, Micarelli C, Massidda O, Bazzoli M. Hard tissue response to argon plasma cleaning/sterilisation of customised titanium abutments versus 5-second steam cleaning: results of a 2-year post-loading follow-up from an explanatory randomised controlled trial in periodontally healthy patients. *Eur J Oral Implantol.* 2013;6(3):251-60.
59. Kern M. On the scientific evidence that the sterilization of customized implant abutments is required. *Eur J Oral Implantol.* 2015;8(3):219.
60. Müssen Implantat-Abutments sterilisiert werden? [press release]. DAHZ, 21.01.2016 2016.
61. Shintani H, Sakudo A, Burke P, McDonnell G. Gas plasma sterilization of microorganisms and mechanisms of action. *Exp Ther Med.* 2010;1(5):731-8.
62. Staehlke S, Oster P, Seemann S, Kruse F, Brief J, Nebe B. Laser Structured Dental Zirconium for Soft Tissue Cell Occupation-Importance of Wettability Modulation. *Materials (Basel, Switzerland)* [Internet]. 2022 2022/01//; 15(3). Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/35160678> Available from: <https://doi.org/10.3390/ma15030732> Available from: <https://europepmc.org/articles/PMC8836786> Available from: <https://europepmc.org/articles/PMC8836786?pdf=render>.
63. Nejatidanesh F, Savabi O, Shahtoosi M. Retention of implant-supported zirconium oxide ceramic restorations using different luting agents. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24 Suppl A100:20-4.
64. Bankoğlu Güngör M, Karakoca Nemli S. The Effect of Resin Cement Type and Thermomechanical Aging on the Retentive Strength of Custom Zirconia Abutments Bonded to Titanium Inserts. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2018;33(3):523–9.
65. Ahmed N, Abbasi MS, Zuberi F, Qamar W, Halim MSB, Maqsood A, et al. Artificial Intelligence Techniques: Analysis, Application, and Outcome in Dentistry-A Systematic Review. *Biomed Res Int.* 2021;2021:9751564.
66. Schwendicke F, Samek W, Krois J. Artificial Intelligence in Dentistry: Chances and Challenges. *J Dent Res.* 2020;99(7):769-74.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Paul Hofmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: [„Charakterisierung von verfahrenstechnischen Kontaminationen auf Hybridabutments nach verschiedenen Reinigungs- und Desinfektionsverfahren. Eine spektroskopische Untersuchung mit Bildanalyse durch überwachtetes maschinelles Lernen.“

„Characterisation of procedural contamination on hybrid abutments after different cleaning and disinfection procedures. A spectroscopic study with image analysis by supervised machine learning.“] selbstständig und 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](http://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.“

04.02.2024

Datum

Unterschrift

---

## Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Paul Hofmann hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

Hofmann, P., Kunz, A., Schmidt, F., Beuer, F., & Duddeck, D. (2023). Segmentation of process-related contaminations on two-piece abutments using pixel-based machine learning. A new quantification approach? *International journal of computerized dentistry*, Advance online publication. <https://doi.org/10.3290/j.ijcd.b3916799>

Beitrag im Einzelnen:

Als Doktorand war ich maßgeblich an der Veröffentlichung der Studienergebnisse beteiligt. In Zusammenarbeit mit den Betreuern wurde die Fragestellung sowie das Studienkonzept präzisiert und weiterentwickelt. Die Herstellung der Proben erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn ZTM Andreas Kunz. Nach einer Einweisung in die spektroskopischen Analysegeräte (REM/EDX) führte ich die spektroskopischen Analysen selbstständig durch.

Außerdem entwickelte ich die Methodik zur Bildsegmentierung und Quantifizierung. Die Auswertung der Daten erfolgte mit Unterstützung des Instituts für Biometrie und Klinische Epidemiologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Charité Mitte (Dr. rer. nat. Konrad Neumann). Die Interpretation der Ergebnisse erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Erst- und Zweitbetreuer. Anschließend habe ich den Entwurf des Publikationsmanuskripts geschrieben, die Abbildungen gestaltet und das Manuskript in enger Abstimmung mit den Betreuern überarbeitet und fertiggestellt.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

---

Unterschrift des Doktoranden

## Druckexemplar der Publikation

### Segmentation of process-related contaminations on two-piece abutments using pixel-based machine learning. A new quantification approach?

Paul Hofmann<sup>a,\*</sup>, Andreas Kunz<sup>b</sup>, Franziska Schmidt<sup>c</sup>, Florian Beuer<sup>c</sup>, Dirk Duddeck<sup>c,d</sup>

<sup>a</sup> Department of Oral Diagnostics, Digital Health and Health Services Research, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, Aßmannshäuser Str. 4-6, 14197 Berlin, Germany; (P.H.)

<sup>b</sup> Private dental laboratory, Schumannstraße 1, 10117 Berlin, Germany; info@andreaskunz-dental.de (A.K.)

<sup>c</sup> Department of Prosthodontics, Geriatric Dentistry and Craniomandibular Disorders, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, Aßmannshäuser Str. 4-6, 14197 Berlin, Germany; flo-rian.beuer@charite.de (F.B.), franziska.schmidt2@charite.de (F.S.)

<sup>d</sup> CleanImplant Foundation, Research Department, Pariser Platz 4a, 10117 Berlin, Germany; dirk.duddeck@gmx.de (D.D.)

\* **Corresponding author: Paul Hofmann**, Tel. +049 30450662249, paul.hofmann@charite.de

## 1. Abstract

**Purpose:** A reference method for quantifying contaminations on two-piece abutments manufactured using CAD/CAM (Computer-Aided Design/Computer-Aided Manufacturing) has not yet been established. In this in vitro study, a pixel-based machine learning method for detecting contamination on customised two-piece abutments was investigated and embedded in a semi-automated quantification pipeline.

**Material and Methods:** Forty-nine CAD/CAM zirconia abutments were fabricated and bonded to a prefabricated titanium base. All samples were analysed for contamination by scanning electron microscopy (SEM) imaging followed by pixel-based machine learning (ML) and thresholding (SW) for contamination detection; quantification was performed in the post-processing pipeline. Wilcoxon signed-rank test and Bland-Altman plot were applied to compare both methods. The contaminated area fraction was recorded as a percentage. **Results:** There was no statistically significant difference between the percentages of contamination areas (median = 0.004) measured with ML (median = 0.008) and with SW (median = 0.012), asymptotic Wilcoxon-test:  $p = 0.22$ . The Bland-Altman plot demonstrated a mean difference of -0,006% (95% confidence interval, CI from -0.011% to 0.0001%) with increased values from a contamination area fraction  $> 0.03\%$  for ML. **Conclusion:** Both segmentation methods showed comparable results in evaluating surface cleanliness; pixel-based machine learning is a promising assessment tool for detecting external contaminations on zirconia abutments; Further studies must investigate its clinical performance.

**Keywords:** Computer-Aided Design, Scanning Electron Microscopy, Machine Learning, Ultrasonics, Hygiene, Dental Implant Abutments

## 2. Introduction

Due to promising clinical and aesthetic outcomes, CAD/CAM-based manufacturing processes for implant-supported restorations are increasingly gaining acceptance (1,2). Despite the interruption of continuity, two-piece implant abutments convince with their material properties with increased fracture resistance, clinically acceptable bond strength, and minor wear and damage at the implant-abutment interface (3-5). Prefabricated titanium bases form the first link of two-piece abutments. Screw-retained to the endosseous implant body, their metallic base is laboratory-bonded to CAD/CAM-milled zirconia abutments. In addition to beneficial material properties, it must be taken into account that abutments are medical devices (6). This means that a risk-adapted hygiene regime is relevant before patient care. The manufacturing processes in the dental laboratory could contaminate the bipartite abutment components. Previous studies found that the contamination could not be removed entirely even after various cleaning procedures (7-9). Suitable detection tools for quantitative information retrieval are still lacking. Reproducible image handling and analysis address this problem. It has become an ever-increasing medical challenge, from image acquisition to quantitative information retrieval, and also managed to research in implant prosthetics. Developments in imaging (e.g., desktop-based SEM) and data analysis (classification, detection, and segmentation) are advancing rapidly. Knowledge of software and hardware technology is needed to apply new methods correctly (10-11), and computational resources must be considered (12). Manual image segmentation and object counting are still widely used, including in assessing the cleanliness of abutment surfaces (9, 13, 14). To the authors' knowledge, a (semi-) automated reference method for detecting and quantifying process-related contaminations on implant superstructures has not been established. However, rapid advances in artificial intelligence (AI) over the last decade have led to the

development of the first clinical approaches in dentistry based on machine learning (15). Therefore, using a reproducible semi-automatic workflow, the present study aims to quantify process-related contamination on CAD/CAM-milled zirconia abutments. For this purpose, standardised scanning electron microscopy (SEM) images embedded in a quantification workflow are comparatively segmented by pixel-based machine learning (ML) and thresholding (SW).

The null hypothesis to be tested and confirmed was that there is no difference in central tendency between the two measurement methods in the population.

### **3. Material and methods**

Two self-developed semi-automated methods (SW, ML) were investigated on forty-nine customised two-piece abutments (CAD/CAM zirconia abutment bonded to a prefabricated titanium base). After cleaning, all samples were individually sealed in sterilisation bags (HS-Sterifoil, Henry Schein Dental, Langen, Germany). An individualised holder was designed to position all specimens for surface analysis in the SEM (Phenom ProX, Phenom-World B.V., Eindhoven, The Netherlands). For this purpose, a laboratory implant was prepared and aligned horizontally with the examination surface facing upwards. Due to the groove-cam connection between the lab implant and the titanium base, all specimens were keyed in the same way to examine the same observation field on the emergence profile after all cleaning processes (**Figure 1**). Cleanroom conditions were used (Laminar FlowBox, cleanroom class 5, DIN EN ISO 14644-1, Spetec GmbH, Erding, Germany) to unpack each sample from the sterilisation pouch without touching the zirconia observation field. Subsequently, all abutments were mounted in the individualised holding device and aligned on a charge-reducing sample holder (Charge-reduction sample holder, Phenom-World B.V., Eindhoven, Netherlands). Additional sample preparation, such as sputter coating, is unnecessary when using a charge-reducing

sample holder. The natural surface state of non-conductive samples can be imaged without charge artefacts, producing high image quality (16). The investigator (P.H.) defined a uniform square observation field for all specimens in the overview image at the coronal emergence profile (**Figure 2**). Subsequently, the observation field was automatically scanned at 1000x magnification, and the linked software (Automated Image Mapping, AIM, version 2.0.2) electronically assembled the 32 individual images in an automated process (image stitching). The images had a width of 6868 and a height of 6868 pixels, one channel, with the dimensional order X Y C Z T. The pixel size was 0.26  $\mu\text{m}$ .

### 3.1 Image data processing and analysis

SEM images were subjected to computer-assisted image analysis to assess the observation field's contamination quantitatively. The area fraction occupied by contaminants was recorded as a percentage (%). All SEM images were input for the image pre-and postprocessing pipeline with the open-source software *Fiji* (ImageJ, version 1.53c, <http://imagej.net/software/fiji/downloads>) (17). Image segmentation was performed using image processing based on a global (histogram-derived) thresholding method and semantic segmentation based on pixel-based machine learning (*Ilastik*, version 1.3.3, <https://www.ilastik.org/download.html>) (**Figure 2**). Segmentation by thresholding (SW) was performed as follows: To deal with variable illumination conditions, a manual threshold of 20% below the modal grey value was set for all SEM images, followed by an automatic global method (18) to segment the greyscale images into features of interest. The workflow was written into a custom script in ImageJ macro language; it is not fully automated and required user interactions manually. The macro script was proven several times to verify whether the results were reproducible. The resulting segmentation was overlaid as regions-of-interest (ROIs) on the raw SEM data to visually check the segmentation's performance by the same experienced investigator (P.H.).

### 3.2 Image segmentation based on pixel-based machine learning (ML)

Raw data were first compressed lossless as a hierarchical data format (HDF5). Subsequently, a representative part of the SEM images (training dataset) was loaded into *ilastik* for pixel classification. Two parallel workflows (Pixel Classification and Autocontext (2-stage)) were used to segment contaminations into semantic classes. *Ilastik* is open-source-based software with a graphical user interface (GUI). Predefined workflows are available for automatic segmentation, classification, tracking, and counting in 2-D and 3-D image and video datasets (19). The separation of the SEM images into semantic classes was done in both workflows: Based on all generic image features and different scales, we interactively trained a random forest (RF) classifier based on the injected training dataset through a painting interface (**Figure 3**). Depending on the dataset's characteristics, the features and scales can be reduced to conserve computer resources. Different classes were defined ("background" and "contamination"), and a few coloured brush strokes did a class assignment in the image. *Ilastik* uses the annotations to estimate the probability of which image pixel belongs to which semantic class. To refine the results, we subsequently correct – where the prediction is wrong or uncertainty occurs. Annotations were made until the classifier's prediction no longer changed. The autocontext workflow used the previous stage's results (prediction map) as input in a second stage and added the raw data in other channels. The algorithm uses image features to interpret edges and texture variations from both data sets – the prediction map and the renewed raw data (10, 20). *Ilastik* internally validated both workflows with the help of the so-called 'out-of-bag (oob) error'. The OOB error represents an unbiased estimate of the test data set error for RF (21, 22). The mean OOB error in percent for RF classifier with pixel classification workflow (RF<sub>P</sub>) was 0.63 % compared to RF classifier with autocontext (2-stage) workflow (RF<sub>A</sub>) with 0.44 %. Annotations were made by the

same investigator (P.H.).  $RF_A$  showed improved performance in terms of error rate and visually, so the complete dataset was fed into the autocontext workflow. The trained classifier was applied to the unseen SEM images as batch processing.

### 3.3 Statistical analysis

Data were analysed using a statistic program (SPSS version 27.0, IBM SPSS). Wilcoxon signed-rank test and Bland-Altman plot analysis were used to compare both methods. The difference between both methods (SW – ML) was plotted against the mean in the scatter plot. Results were declared statistically significantly different at a two-sided significance level of  $\alpha = 0.05$ .

## 4. Results

A Wilcoxon signed-rank test was calculated to compare the contamination area fractions from both measurement methods, measured in percent (%). There was no statistically significant difference between the percentages of contamination areas (median = 0.004, mean = 0.006) measured with SW (median = 0.012, mean = 0.026) and measured with ML (median = 0.008, mean = 0.032), asymptotic Wilcoxon-test:  $z = -1.24$ ,  $p = 0.22$ ,  $n = 49$ . The central tendency differences do not differ significantly, so test results cannot reject the null hypothesis at the significance level of  $\alpha = 0.05$ . The interquartile range (IQR) was 0.037 for the ML and 0.024 for SW. To measure the method agreement, the differences between SW and ML were plotted vertically to the means of SW and ML horizontal with the help of a Bland-Altman plot (**Figure 4**). However, it was striking that the data are closer together for small contamination areas. As the contamination area fraction increases above 0.03 %, negative differences occur due to ML. The mean difference between SW and ML was -0.006% (95% confidence interval, CI from -

0.0112% to 0.0001%), with 95% limits of agreement ( $\pm 1.96$  SD) of 0.033% and -0.044%, respectively.

## 5. Discussion

Implant abutments are medical devices. Concerning clinical risk assessment and classification, abutments must be assigned to an appropriate and approved cleaning and disinfection or sterilisation procedure before clinical use (23, 24). SEM imaging has established itself as a valid tool for morphological characterisation in the micrometre range for implant and abutment surfaces (8, 13, 25). However, there is no established reference method to assess and monitor surface cleanliness. So far, the detection of contamination has been done manually (e.g., by grid lines (26), manual labelling (9, 13), and additional computer-assisted planimetric measurement (CAPM) (14)). The aim of this in vitro study was to develop a reproducible quantitative workflow (ML) for detecting process-related contamination on zirconia abutments and to demonstrate its performance compared to a conventional segmentation tool (SW) (**Figure 2, Figure 4**). Furthermore, ML was internally validated using the 'out-of-bag (oob) error' to indicate how well the trained random forest (RF) classifier performs.

There are many limitations in the current study, starting with the lack of external ground truth validation, as unseen SEM images should be manually labelled as an "out-of-bag" test dataset compared to the trained classifier. When the methodology was initiated, no guidance for conducting AI studies in dental research was available; now, a consented up-to-date checklist exists (12). Therefore, the results may not be generalisable to abutments made of titanium or other all-ceramic materials. It would have been interesting to see how well the trained classifier generalises to external images. Further in vitro studies with heterogeneous abutment materials and larger data sets from multiple donors are needed in the future.

Threshold-based image segmentation and the quantification pipeline were integrated into a simple program to ensure reproducibility and reliability. However, there could be limitations in class assignments for ML supervised by the same investigator (P.H.). Here, training was only done by a single investigator to minimise the influence of personal preferences on the results. It would have been beneficial to determine the intrarater reliability of the examiner. When choosing a suitable semantic segmentation procedure, we opted for the autocontext workflow, considering the internal validation (OOB error). In addition, we observed good segmentation performance in the unseen images (test dataset) (**Figure 3, Figure 4**). This was also reflected in the measured contamination levels; they agreed with manual expert annotations of Canullo et al. and Gehrke et al. (9, 14). The comparison of both quantitative outcomes showed no significant difference (asymptotic Wilcoxon-test:  $z = -1.24$ ,  $p = 0.22$ ,  $n = 49$ ). Nevertheless, it was striking that the methods' deviation depended on the values' level (**Figure 4**). ML measured higher values from a contamination area fraction of more than 0.03 %, which explains the bias of -0.006 %. It remains to be clarified whether the limits of agreement (LoA) of 0.033 % and -0.044 % determined in the Bland-Altman plot are acceptable. As far as the authors are aware, there are no pre-established limits for the LoAs. Future method comparisons for (abutment) surface cleanliness should establish acceptable limits based on biological considerations. A small data set further limited this research. Due to the lack of previous research studies on this topic, our sample size was guided by results that showed cleaning-specific differences between individual cleaning and disinfection procedures (8, 9, 14). In addition, the number of samples was proportionate to the effort and cost of this study. Finally, the research results were limited by the variations in the signal quality of the stitched SEM images with noise artefacts. Variations in

the signal-to-noise ratio (SNR) and uncertainty may lead to bias in the test dataset (12), which could challenge the data's robustness.

While deep learning approaches such as Convolutional Neural Networks (CNN) currently provide the best segmentation results in machine learning, the performance of the models is hampered by enormous amounts of training data and computational resources (10, 27). Supervised machine learning by a trained random forest classifier represents a compromise. Advantages are:

- The easy-to-use user interface and the possibility to run it on standard computers.
- Training speed (interactive learning, on-the-fly updating of user annotations).
- The prediction accuracy.

However, it should be noted that pixel-based classification is based only on the selected features and the training dataset (user annotations, limited training data) (10). Conventional image processing techniques such as global thresholding are histogram-based algorithms that require fewer computer resources but are a relatively rigid segmentation method. This was evident in object detection within SEM greyscale images; it was challenging to deal with the unevenly illuminated stitched SEM images with textured surfaces (e.g., grinding marks). Despite pre-processing steps to improve the signal-to-noise ratio, background noise can still influence the image histogram and thus lead to false-positive results. This seems to have led to a slightly reduced segmentation performance for SW and might explain the difference between the two methods (Figure 4). A selection of smaller SEM observation fields would have been more advantageous, as suggested by Sawase et al. and Canullo et al. (13, 28).

## **6. Conclusion**

Within this limited sample size, we could demonstrate that reproducible semi-automatic image evaluation procedures for implant abutments are possible. Using standardised SEM imaging, followed by a quantification pipeline through machine learning, is a promising evaluation tool to establish a reference method and improve hygiene standards. Its clinical performance needs to be investigated further concerning heterogenous abutment materials and ground truth labelling; future research on AI solutions based on Deep Learning should be considered.

## 7. References

1. Happe A, von Glasser GS, Neugebauer J, Strick K, Smeets R, Rutkowski R. Clinical performance of zirconia implant abutments luted to a titanium base - a retrospective cross-sectional study. *Int J Comput Dent.* 2022;25(1):37-45.
2. Jung RE, Sailer I, Hämmerle CH, Attin T, Schmidlin P. In vitro color changes of soft tissues caused by restorative materials. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007;27(3):251-7.
3. Stimmelmayer M, Edelhoff D, Güth J-F, Erdelt K, Happe A, Beuer F. Wear at the titanium–titanium and the titanium–zirconia implant–abutment interface: A comparative in vitro study. *Dental Materials.* 2012;28(12):1215-20.
4. Zembic A, Bösch A, Jung RE, Hämmerle CH, Sailer I. Five-year results of a randomized controlled clinical trial comparing zirconia and titanium abutments supporting single-implant crowns in canine and posterior regions. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(4):384-90.
5. Gehrke P, Alius J, Fischer C, Erdelt KJ, Beuer F. Retentive strength of two-piece CAD/CAM zirconia implant abutments. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2014;16(6):920-5.
6. Consolidated text: Regulation (EU) 2017/745 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on medical devices, amending Directive 2001/83/EC, Regulation (EC) No 178/2002 and Regulation (EC) No 1223/2009 and repealing Council Directives 90/385/EEC and 93/42/EEC. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2017/745/2020-04-242017>.
7. Park JH, Olivares-Navarrete R, Baier RE, Meyer AE, Tannenbaum R, Boyan BD, et al. Effect of cleaning and sterilization on titanium implant surface properties and cellular response. *Acta Biomater.* 2012;8(5):1966-75.
8. Gehrke P, Tabellion A, Fischer C. Microscopical and chemical surface characterization of CAD/CAM zirconia abutments after different cleaning procedures. A qualitative analysis. *J Adv Prosthodont.* 2015;7(2):151-9.
9. Canullo L, Micarelli C, Lembo-Fazio L, Iannello G, Clementini M. Microscopical and microbiologic characterization of customized titanium abutments after different cleaning procedures. *Clin Oral Implants Res.* 2014;25(3):328-36.

10. Berg S, Kutra D, Kroeger T, Straehle CN, Kausler BX, Haubold C, et al. ilastik: interactive machine learning for (bio)image analysis. *Nat Methods*. 2019;16(12):1226-32.
11. Kreshuk A, Zhang C. Machine Learning: Advanced Image Segmentation Using ilastik. *Methods Mol Biol*. 2019;2040:449-63.
12. Schwendicke F, Singh T, Lee JH, Gaudin R, Chaurasia A, Wiegand T, et al. Artificial intelligence in dental research: Checklist for authors, reviewers, readers. *J Dent*. 2021;107:103610.
13. Canullo L, Micarelli C, Iannello G. Microscopical and chemical surface characterization of the gingival portion and connection of an internal hexagon abutment before and after different technical stages of preparation. *Clin Oral Implants Res*. 2013;24(6):606-11.
14. Gehrke P, Abazari C, Schlichter K, Fischer C, Duddeck D, Romanos GE, et al. Qualitative and Semi-Quantitative Assessment of Processing-Related Surface Contamination of One- and Two-Piece CAD/CAM Abutments before and after Ultrasonic Cleaning. *Materials (Basel)*. 2020;13(14).
15. Ahmed N, Abbasi MS, Zuberi F, Qamar W, Halim MSB, Maqsood A, et al. Artificial Intelligence Techniques: Analysis, Application, and Outcome in Dentistry-A Systematic Review. *Biomed Res Int*. 2021;2021:9751564.
16. Boyde A. Scanning Electron Microscopy of Bone. *Methods Mol Biol*. 2019;1914:571-616.
17. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*. 2012;9(7):676-82.
18. Huang L-K, Wang M-JJ. Image thresholding by minimizing the measures of fuzziness. *Pattern Recognition*. 1995;28(1):41-51.
19. C. Sommer CS, U. Köthe and F. A. Hamprecht. Ilastik: Interactive learning and segmentation toolkit. *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*. 2011.
20. Tu Z, Bai X. Auto-context and its application to high-level vision tasks and 3D brain image segmentation. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*. 2010;32(10):1744-57.
21. Breiman L. Random Forests. *Machine Learning*. 2001;45(1):5-32.
22. Bylander T. Estimating Generalization Error on Two-Class Datasets Using Out-of-Bag Estimates. *Machine Learning*. 2002;48(1):287-97.

- 
23. Hygieneleitfaden. Deutscher Arbeitskreis für Hygiene in der Zahnmedizin (Hrsg). 2022;15. Ausgabe.
  24. Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz. 2012;55(10):1244-310.
  25. Dohan Ehrenfest DM, Coelho PG, Kang BS, Sul YT, Albrektsson T. Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. Trends Biotechnol. 2010;28(4):198-206.
  26. Farronato D, Fumagalli D, Asa'ad F, Rasperini G. Decontamination of Customized Laser-Microtextured Titanium Abutments: A Comparative in Vitro Study of Different Cleaning Procedures. Int J Periodontics Restorative Dent. 2018;38(5):e87–e95.
  27. Schwendicke F, Samek W, Krois J. Artificial Intelligence in Dentistry: Chances and Challenges. J Dent Res. 2020;99(7):769-74.
  28. Sawase T, Wennerberg A, Hallgren C, Albrektsson T, Baba K. Chemical and topographical surface analysis of five different implant abutments. Clinical Oral Implants Research. 2000;11(1):44-50.

## 8. Figures

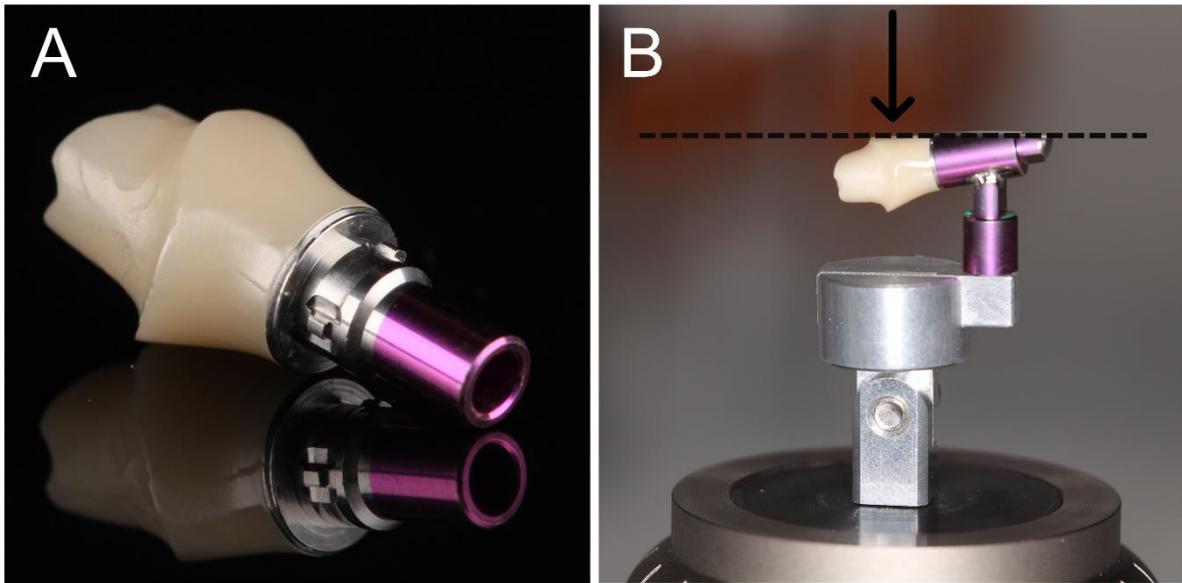


Figure 1: (A) bonded two-piece abutment, (B) individualised SEM specimen holder; specimens are precisely keyed by interlocking groove and cam connection, surface to be examined is horizontally aligned.

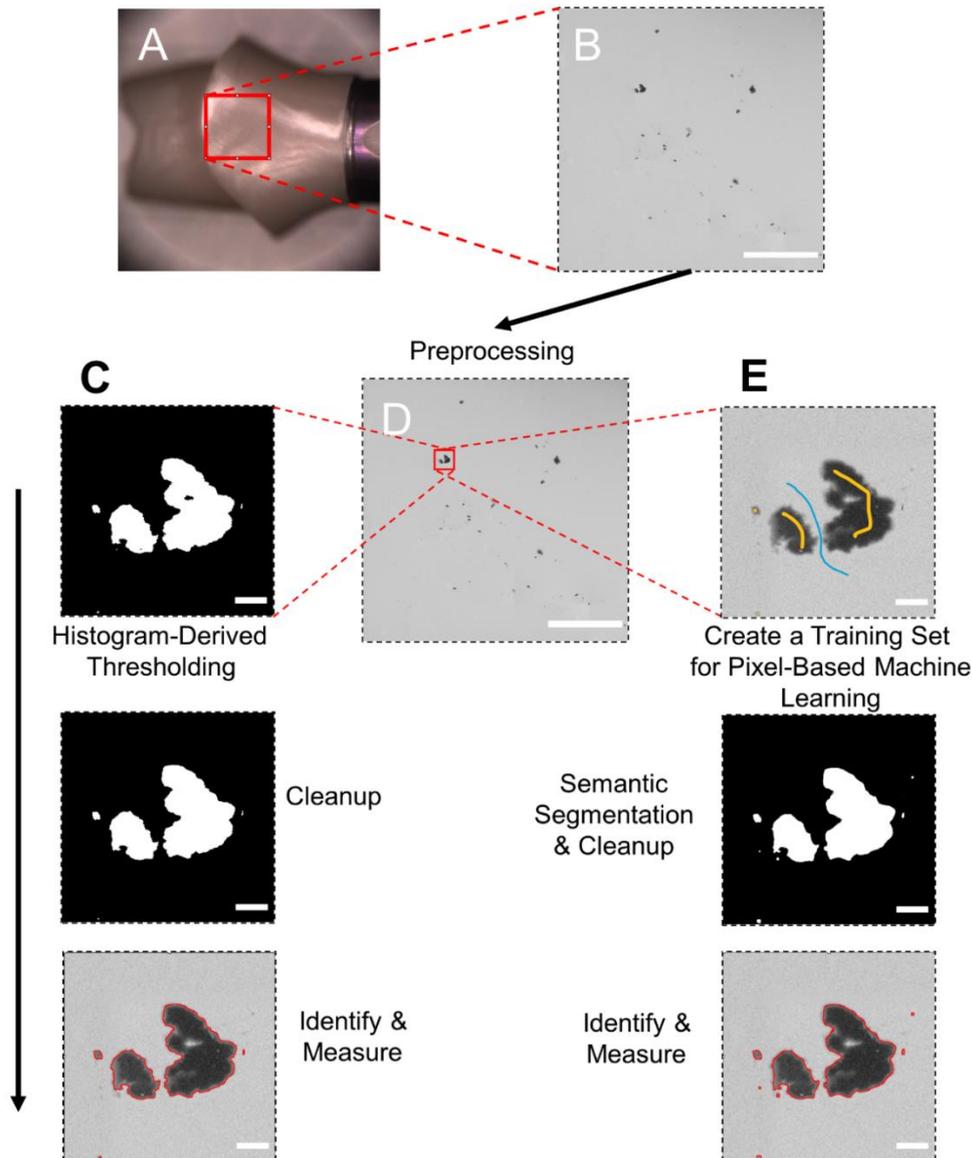


Figure 2: A comparison of semi-automated workflows to detect and quantify contamination on zirconia abutments; identified contamination is marked red as regions-of-interest (ROI). Post-processing pipelines included binary clean-up with morphological operations (fill holes, erode, dilate), calibration ( $1\mu\text{m} = 3,9$  pixels), exclusion of contamination sized  $< 2$  pixels or marginal extension:

- (A) camera overview image over the coronal emergence profile, square box shows the predefined observation field
- (B) raw stitched SEM-image
- (C) global threshold-based segmentation and post-processing pipeline in *Fiji* (17)
- (D) pre-processing pipeline: both workflows used mean filtering to reduce the signal-to-noise ratio
- (E) segmentation with pixel-based machine learning in *ilastik* (19) followed by a post-processing pipeline in *Fiji* using classifier segmentation to calculate contamination area fraction.

Scale bars are 20 microns except for (B) and (D), where the bar is 500 microns.

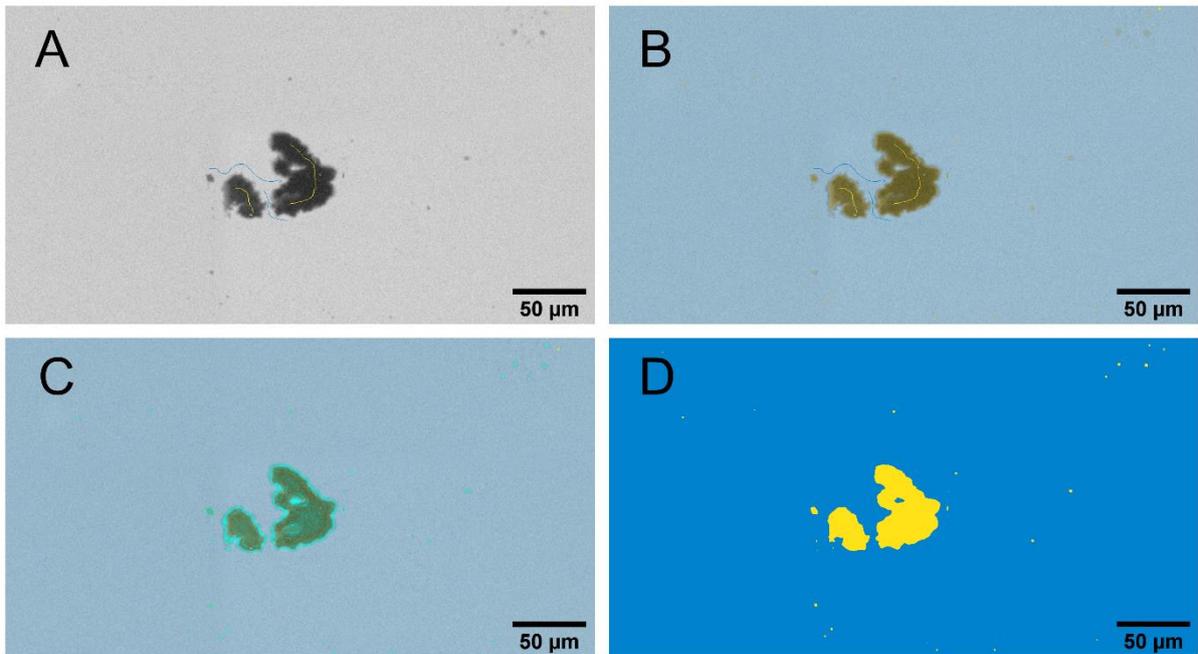


Figure 3: Two-stage autocontext workflow in ilastik. (A) raw image section with sparse annotations - class definition by brush strokes: Background (blue) and contaminations (yellow); (B) prediction map: background = translucent blue, contaminations = translucent yellow; (C) uncertainty map: pixels in the class boundary area remain uncertain (turquoise) even with a well-trained classifier, the background should appear homogeneous; (D) simple segmentation (output for quantification pipeline in *Fiji*).

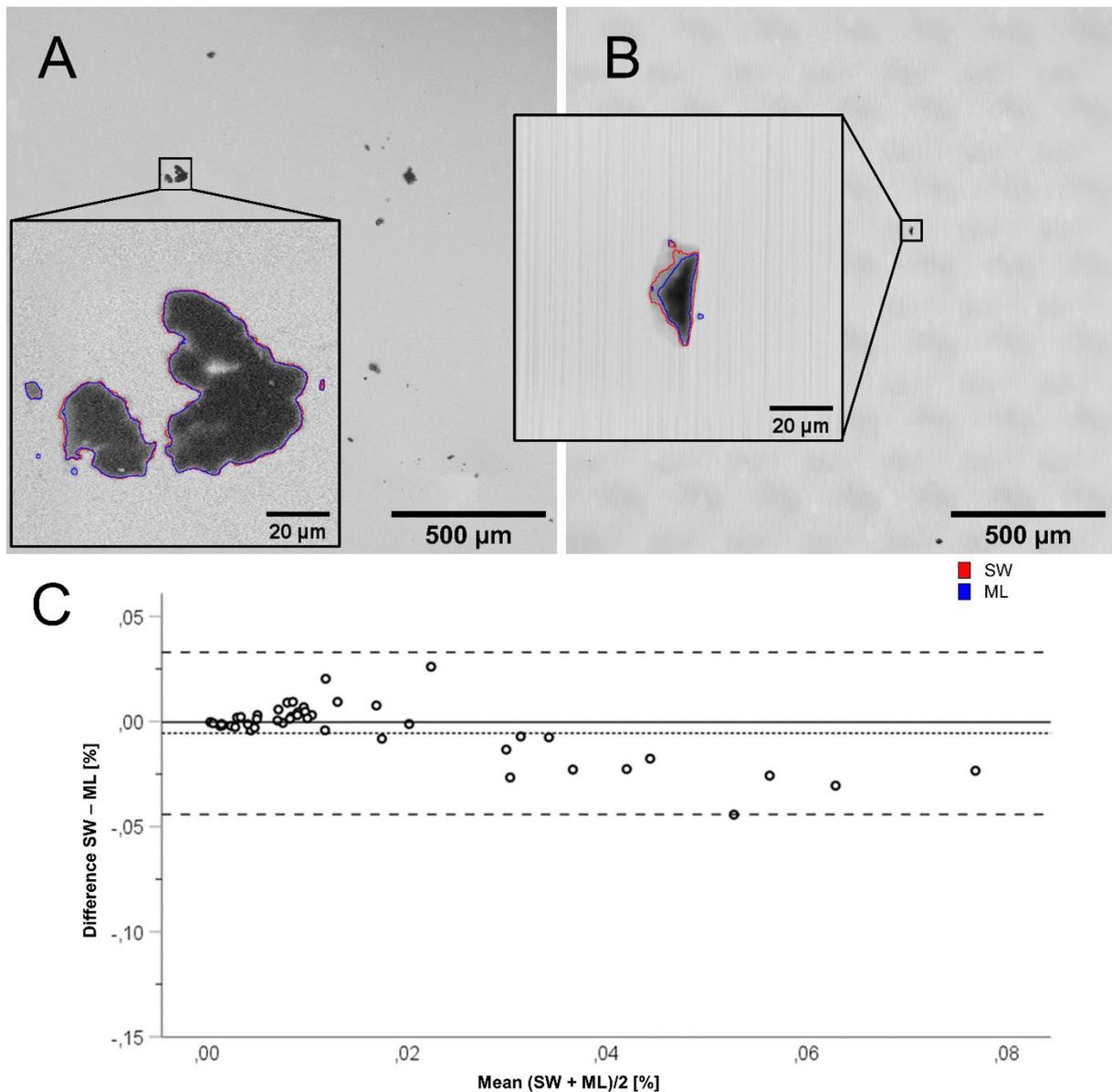


Figure 4: Comparison of both methods for calculating contamination area fractions. The enlarged square sections of two observation fields represent the detected contaminations as overlapped regions-of-interest (ROI). Red border = threshold method (SW), blue border = trained random forest classifier (ML). (A) detected contamination; (B) detected contamination; (C) Bland-Altman plot for both methods ( $n = 49$ ). The mean difference was  $-0.006\%$  (95% confidence interval, CI from  $-0.0112\%$  to  $0.0001\%$ ), shown as a fine-dotted black line. The graph shows that the vertical spread of the scatter points is wider for high values of the average of both measured variables, with a predominantly negative spread occurring from  $0.03\%$  onwards, indicating higher values for ML. Limits of agreement are shown as dotted, black lines ( $\pm 1.96$  SD), which are  $0.033\%$  and  $-0.044\%$ , respectively.

## **Lebenslauf**

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



---

## Komplette Publikationsliste

Paul Hofmann, Gerd Göstemeyer, Christian H. Splieth, Sebastian Paris, Falk Schwendicke. Kariesmanagement bei Erwachsenen: aktuelle Empfehlungen zur Behandlung von Approximal- und Sekundärkaries. ZMK 4 (37) 2021, 182-192

Hofmann, P., Kunz, A., Schmidt, F., Beuer, F., & Duddeck, D. (2023). Segmentation of process-related contaminations on two-piece abutments using pixel-based machine learning. A new quantification approach? International journal of computerized dentistry, Advance online publication. <https://doi.org/10.3290/j.ijcd.b3916799>

Paul Hofmann, Andreas Kunz, Franziska Schmidt et al. Influence of exposure of customized dental implant abutments to different cleaning procedures: an in vitro study using AI-assisted SEM/EDS analysis, 17 March 2023, PREPRINT (Version 1) available at Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2639402/v1>

Hofmann P, Kunz A, Schmidt F, Beuer F, Duddeck D. Influence of exposure of customized dental implant abutments to different cleaning procedures: an in vitro study using AI-assisted SEM/EDS analysis. International Journal of Implant Dentistry. 2023;9(1):33. <https://doi.org/10.1186/s40729-023-00498-8>

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Menschen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Ich möchte mich hiermit bei Herrn Prof. Dr. med. dent. Florian Beuer, Direktor der Abteilung für Zahnärztliche Prothetik, Alterszahnmedizin und Funktionslehre am Institut für Zahn- Mund- und Kieferheilkunde der Charité – Universitätsmedizin Berlin, bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit unter seiner Leitung durchzuführen.

Ferner danke ich Herrn Dr. med. dent. Dirk Duddeck besonders für die Themastellung, die ausgezeichnete Betreuung und seine ständige Erreichbarkeit. Auch für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich herzlich bedanken.

Auch möchte ich Herrn Andreas Kunz, Herrn Dr. Peter Schmiedel, Herrn Prof. Dr. Paul Zaslansky sowie Frau Dr. Franziska Schmidt meinen Dank aussprechen, die mich während der Zeit der Probenherstellung, am Rasterelektronenmikroskop, der Bildprozessierung, der Interpretation der Ergebnisse und beim Schreiben dieser Arbeit unterstützt haben.

Für die finanzielle Unterstützung durch die Oral Reconstruction Foundation sowie die CleanImplant Foundation danke ich beiden Förderern.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern, meiner Freundin, meiner Schwester, meinem Onkel und meiner Tante sowie in memoriam meiner Großmutter ganz besonders herzlich bedanken für die uneingeschränkte, liebevolle und vielseitige Unterstützung während meines Studiums, meines beruflichen Werdegangs und während meiner Krebserkrankung, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.