

**Kaltplasma unterstützte Dekontamination des
Innenraumes vom dentalen Implantat**
eine *in-vitro*-Studie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Dimitrije Glamocak

aus Langenfeld

2024

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachterin: Priv.-Doz. Dr. med. dent. Pia-Merete Jervøe-Storm
2. Gutachter: Prof. Dr. Helmut Stark

Tag der Mündlichen Prüfung: 12.09.2024

Aus der Klinik und Poliklinik für Parodontologie, Zahnerhaltung und Präventive
Zahnheilkunde

Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. Søren Jepsen, M.Sc.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Dentale Implantologie	7
1.1.1	Entwicklung dentaler Implantate	7
1.1.2	Einteilung von Implantaten	8
1.1.3	Implantat-Abutment-Interface (IAI)	9
1.1.4	(Miss-)Erfolg in der Implantologie	13
1.2	Periimplantäre Zustände und Erkrankungen	15
1.2.1	Klassifikation periimplantärer Erkrankungen	15
1.2.2	Epidemiologie	16
1.2.3	Ätiologie und Pathogenese	16
1.2.4	Prävention	17
1.3	Relevanz des oralen Mikrobioms	17
1.3.1	Nachweis pathogener Mikroorganismen	18
1.4	Dekontamination von Implantaten	19
1.4.1	Externe Dekontamination von Implantaten	19
1.4.2	Interne Dekontamination des Implantatinnenraumes	20
1.5	Kaltes atmosphärisches Plasma	20
1.5.1	Grundlagen von Plasmen	20
1.5.2	Kaltplasma	21
1.5.3	Subtypen von Kaltplasmageräten	26
2	Ziel der Arbeit / Fragestellung / Arbeitshypothesen	29
3	Material und Methoden	30
3.1	Material	30
3.2	Methoden	31

3.2.1	Versuchsablauf	31
3.2.2	Probengenerierung	33
3.2.3	Molekularbiologische Diagnostik mittels Real-Time PCR (RT-PCR)	33
3.2.4	Statistisches Analyseverfahren	34
4	Ergebnisse	36
4.1	Ausgewählte Zielbakterien/ -pathogene	36
4.1.1	Gesamtbakterienzahl (TBL)	36
4.1.2	Einzelne pathogene Mikroorganismen	37
4.1.3	<i>Actinomyceten</i> Spp.	42
4.2	Interindividuelle Auswertung	43
4.3	Statistische Auswertung	45
4.3.1	Mann-Whitney-U-Test	45
4.3.2	Kruskal-Wallis-Test	45
5	Diskussion	47
5.1	Hauptergebnis	47
5.2	Methodendiskussion	47
5.2.1	Implantologische Aspekte	47
5.2.2	Mikrobiologische Aspekte	49
5.2.3	Kaltplasma basierte Aspekte	51
5.2.4	Nutzen von Kaltplasmen in der dentalen Implantologie	54
5.2.5	Spülflüssigkeiten in Kombination mit der Kaltplasmatherapie	56
5.3	Ergebnisdiskussion	60
5.3.1	Bakterienreduktion	60
5.3.2	(Aus-)Wirkung des Kaltplasmas	65
5.4	Stärken, Schwächen, Grenzen der Untersuchung	69
6	Schlussfolgerung	70

7	Zusammenfassung	72
8	Anhang	74
8.1	Materialliste	74
8.2	Ergebnisse der einzelnen Testgruppen	75
8.3	Abbildungsverzeichnis	77
8.4	Tabellenverzeichnis	78
9	Literaturverzeichnis	79
10	Danksagung	97

Abkürzungsverzeichnis

aPDT	Antimikrobielle photodynamische Therapie
BOP	Bleeding on Probing (Blutung auf Sondierung)
CHX	Chlorhexidindigluconat
DBD (DBE)	Dielectric barrier discharge (dielektrische Barriereentladung)
DNA	Desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen
IAI	Implantat-Abutment-Interface
mRNA	Messenger ribonucleic acid (Boten-Ribonukleinsäure)
PAW	Plasma aktiviertes Wasser
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase-Ketten-Reaktion)
PD	Probing depth (Sondierungstiefe am Implantat)
PDL	Parodontales Ligament
P-I	Periimplantitis
PSD	Polymikrobielle Synergie und Dysbiose
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
RNS	Reaktive Stickstoffspezies
RT-PCR	Real-Time PCR
TBL	Total bacterial load (Gesamtbakterienzahl)
UPT	Unterstützende Parodontitistherapie (auch für Implantate)

1 Einleitung

1.1 Dentale Implantologie

1.1.1 Entwicklung dentaler Implantate

Zahnmedizinische Implantate sind definiert als alloplastische Materialien, die im Bereich des Kiefers verankert werden, um Zahnersatz befestigen zu können (Weber, 2016). Der Grundgedanke beruht auf der Idee des Ersatzes verlorengegangener Zähne. Die Implantologie bietet ästhetische, phonetische sowie funktionelle Vorteile und ermöglicht dadurch nicht nur eine kaufunktionelle Rehabilitation, sondern auch eine Stärkung des Selbstbewusstseins der Patienten (Groß et al., 2019). Historisch gab es verschiedene Versuche, Implantate im bzw. um den Kieferknochen zu befestigen, jedoch gehen die heute hauptsächlich verwendeten Implantatsysteme auf den Schweden Per-Ingvar Brånemark zurück, der diese in den 1960er Jahren entwickelte (Brånemark et al., 1969). Hierbei handelte es sich um rotationssymmetrische Schraubenimplantate aus Reintitan, die subgingival inseriert wurden und damit enossal, d.h. im Inneren des Knochens, liegen (Schwenzer und Ehrenfeld, 2019). Brånemark untersuchte in den späten 1970er Jahren die hohe Akzeptanz von Titan im menschlichen Knochen (Brånemark et al., 1969). Daraufhin definierte er die Osseointegration als „direkten funktionellen und strukturellen Verbund zwischen dem organisierten, lebenden Knochengewebe und der Oberfläche eines belasteten Implantates“ (Brånemark et al., 1977). Das Implantat sollte dafür primär mechanisch stabil im Kieferknochen verankert werden. Es kommt zu einer Wundheilung im Bereich des Implantat-Knochen-Interfaces. Die Anlagerung und Reifung des Weichgewebekomplexes, also die „Periointegration“, vollzieht sich in sechs bis acht Wochen nach Insertion des Implantats (Salvi et al., 2015). Somit hat neben der knöchernen Verankerung auch das weichgewebige Attachment, aus periimplantären Saumepithel und Bindegewebe bestehend, Relevanz für den Einheilerfolg von Implantaten (Berglundh et al., 2018). Die Besonderheit dentaler Implantate beruht auf den mechanischen und chemischen Anforderungen, denen das Material in seiner Umgebung ausgesetzt wird: Einerseits unterliegen Implantate aufgrund des Kauakts hohen

Belastungen bei gleichzeitig geringer eigener Größe, andererseits bestehen große pH-Wert Schwankungen zwischen und innerhalb der verschiedenen Gewebe (Schwenzer und Ehrenfeld, 2019).

1.1.2 Einteilung von Implantaten

Dentale Implantate lassen sich nach diversen Gesichtspunkten einteilen, wodurch sich auch die Anzahl von etwa 300 verschiedenen Implantatsystemen erklären lässt. Grundsätzlich besteht eine Implantatkonstruktion aus einem 1. enossalen Anker, 2. einem transgingivalen Übergangsstück, häufig als Implantathals oder Abutment bezeichnet, und 3. einem prothetischen Aufbaupfosten (Koeck und Wagner, 2002). Die Begrifflichkeiten werden je nach Hersteller unterschiedlich gewählt. Die Anforderungen der das Implantat umgebenden Gewebe, speziell also der Mukosa und des Knochens, geben letztlich das sehr ähnliche Design der heute gängigen Implantate vor. Da es, anders als beim echten Zahn, keine Aufhängung des Implantats im umliegenden Gewebe mittels eines Desmodonts gibt, muss die Kraft bei Druck- und Zugkräften gleichmäßig im Kieferknochen verteilt sein. Dies wird über die Dimensionierung der Oberfläche sowie die Form des Implantats erreicht (Koeck und Wagner, 2002). Hieraus abgeleitet ergeben sich für die Implantatsysteme vier Grundformen: Der Implantatkörper ist entweder zylindrisch oder konisch und die Oberfläche entweder glatt oder mit einem Gewinde versehen, wodurch es retentionsstabil wird (Cacaci, 2006). Als Material werden hauptsächlich Titan oder Titanlegierungen, z.B. Ti-6Al-4V, verwendet. Aufgrund der besseren klinischen Einheilung verwenden die Hersteller am häufigsten Reintitan (Koeck und Wagner, 2002). Der Vorteil von Titan gegenüber anderen Werkstoffen besteht in der Ausbildung einer passivierenden Oxidschicht, die sich spontan an der Luft ausbildet und den Kontakt zum Kieferknochen bildet (Wheelis et al., 2018).

Einteilige vs. zweiteilige Implantatsysteme

Es gibt grundsätzlich ein- und zweiteilige Implantatsysteme (s. **Abb. 1**). Bei einteiligen Implantaten bestehen Abutment und Implantat aus einem Stück. Dadurch weisen sie eine höhere mechanische Stabilität auf, wodurch auch schmalere Implantatdurchmesser möglich sind. Sie müssen jedoch ihrer prothetischen Funktion entsprechend korrekt

gesetzt werden, da durch das fehlende separate Abutment die Kronenachse zum Implantat kaum korrigiert werden kann (Prithviraj et al., 2013). Entsprechende Vorteile bieten zweiteilige Implantate (Zipprich et al., 2007): Hier sind Implantat und Abutment voneinander getrennt (s. **Abb. 1**). Mittels unterschiedlicher Abutments kann die Achse der Suprakonstruktion zahntechnisch korrigiert werden, was ein patientenindividuelles Vorgehen erlaubt. Allerdings kann sich durch die Trennung ein Mikrospace zwischen den Anteilen ergeben (Steinebrunner et al., 2005).

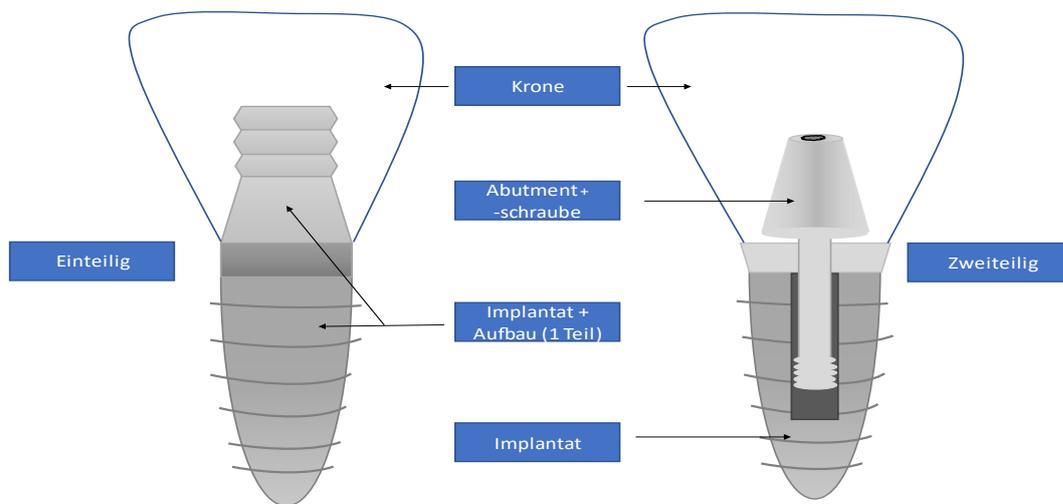


Abb. 1: Unterschied einteilige vs. zweiteilige Implantatsysteme

1.1.3 Implantat-Abutment-Interface (IAI)

Bei zweiteiligen Systemen sind Implantat und Abutment mittels einer Abutmentschraube verbunden. Diese Verbindung bezeichnet man als Implantat-Abutment-Interface (IAI). Grundsätzlich werden externe und interne Verankerungen unterschieden. Zu den externen zählt der Außensechskant des Brånemark Systems. Interne Verbindungen lassen sich weiter differenzieren in konische, verzahnte und polygonale, wobei die polygonale Verbindung je nach Hersteller meist ein Sechs- oder Achtkant ist (Binon, 2000; Cacaci, 2006).

Eine andere Einteilung eher technischer Natur unterscheidet Stoßverbindungen ohne Selbsthemmung und Konusverbindungen mit Selbsthemmung. Unter die

Stoßverbindungen fallen sowohl die externen als auch internen Fügetypen, da hier jeweils Implantat mit Abutment über senkrecht zur Implantatachse befindliche Flächen zusammengepresst verbunden werden. Bei der externen Verbindung stellt das Implantat die Patrize und das Abutment die Matrize dar; bei der internen Verbindung ist es umgekehrt, weil das Abutment (Patrize) in das Implantatlumen (Matrize) eingebracht wird. Bei Konusverbindung gleitet das Abutment in die Matrize und wird durch die entstehende Haftkraft gegen Abgleit-/Abzugsbewegungen gesichert, was als Selbsthemmung bezeichnet wird (s. **Abb. 2**) (Zipprich et al., 2007).

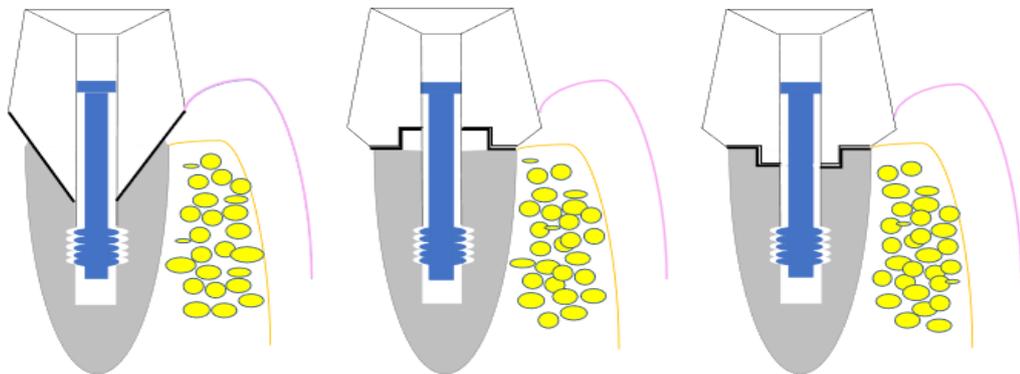


Abb. 2: Verbindungsarten von Implantat zu Abutment. Links: Konusverbindung, Mitte: externe Verbindung, Rechts: interne Verbindung

Heutzutage werden vorwiegend Implantate mit einer internen Verbindung verwendet, um Schrauben- bzw. Kronenfrakturen, die durch Scherkräfte verursacht werden, zu vermeiden (Koeck und Wagner, 2002).

1.1.3.1 Mechanisch-technische Grundlagen

Überall dort, wo mehrere Teile aufeinandertreffen, kommt es produktions- und materialbedingt zu Passungenauigkeiten. Aus mechanischer Sicht liegt zwischen Implantat und Abutment eine Schraubverbindung vor (McGlumphy et al., 1998). Durch Parafunktion oder extraaxiale Okklusionskontakte unterliegen Implantate ständig Kräften, die die o.g. Verbindung voneinander lösen können. Im Regelfall kommt es jedoch primär zu einer Lockerung der Schraube, die zu Mikrobewegungen führt und mechanische sowie biologische Probleme nach sich zieht (Weng und Richter, 2005). Das IAI wird also für eine Mikrospaltbildung anfällig, sobald es dynamischen Kräften ausgesetzt ist, die mit der Belastung des prothetischen Aufbaus beginnen (Zipprich et al., 2007). Es kommt zum Versatz der Passung der Komponenten und damit zu einer bakteriellen Kolonisation, die den Implantaterfolg gefährdet (Vinhas et al., 2020). Es tritt der sog. „settling effect“ ein: Mikroskopisch kleine Ungenauigkeiten, die für die Haftung zwischen Implantat und Abutment sorgen, werden abgerieben (Winkler et al., 2003).

1.1.3.2 Mikrospalt am IAI als vulnerable Stelle

Implantate unterliegen den gleichen biologischen und mechanischen Anforderungen wie echte Zähne. Dies bedingt den komplexen Aufbau eines Implantates, welches an die verschiedenen Gewebe angepasst sein muss. Neben dem krestalen Knochenniveau spielen der epitheliale und bindegewebige Anschluss an das Implantat eine ästhetische und funktionelle Rolle. So bietet ein längerer Implantathals zwar eine bessere Ästhetik, erleichtert jedoch den Zutritt für Mikroorganismen (Cacaci, 2006). Dies ist bei zweiteiligen Implantaten bedingt durch den am Übergang des Implantats zum Aufbau entstehenden Spalt, der sich unterhalb des Zahnfleisches befindet und damit der Pflegbarkeit entzieht. Somit bildet der Sulkus um das Implantat ein Bakterienreservoir, der eine Penetration an diesen Spalt erlaubt (s. **Abb. 3**) (Quirynen und van Steenberghe, 1993).

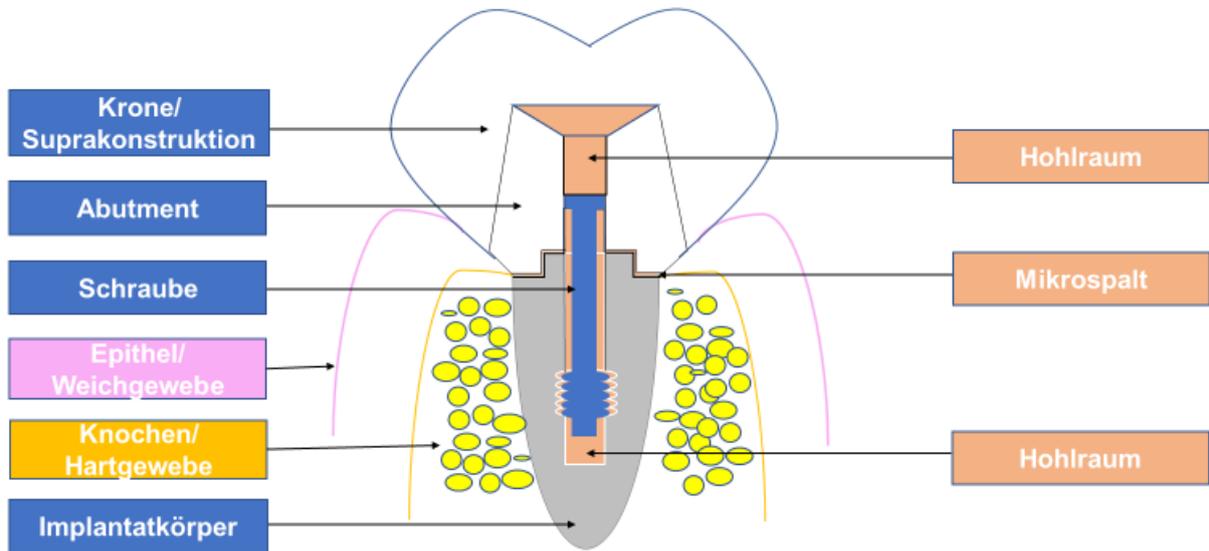


Abb. 3: Potenzielle Hohlräume eines endossalen Implantates (orange gekennzeichnet)

Durch das IAI entsteht zwangsläufig ein Mikrospace, der einen wesentlichen Nachteil zweiteiliger Implantatsysteme darstellt. Er bildet ein potenzielles Reservoir für Mikroorganismen (Enkling et al., 2013; Jervøe-Storm et al., 2015), welches je nach Implantatsystem 1-49 μm groß ist (Mishra et al., 2017) und dadurch eine Rolle für die Entstehung periimplantärer Entzündungen spielt (Canullo et al., 2015). Mastikationsvorgänge führen bedingt durch die Ungenauigkeiten der Implantatteile zu Mikrobewegungen. Es kommt zu einer Flüssigkeitsbewegung über den Sulkus, wodurch zwangsläufig ein Bakterien austausch stattfindet. Dies wird als Pumpeffekt bezeichnet (Broggini et al., 2003) und kontaminiert den krestalen Knochen (s. **Abb. 4**).

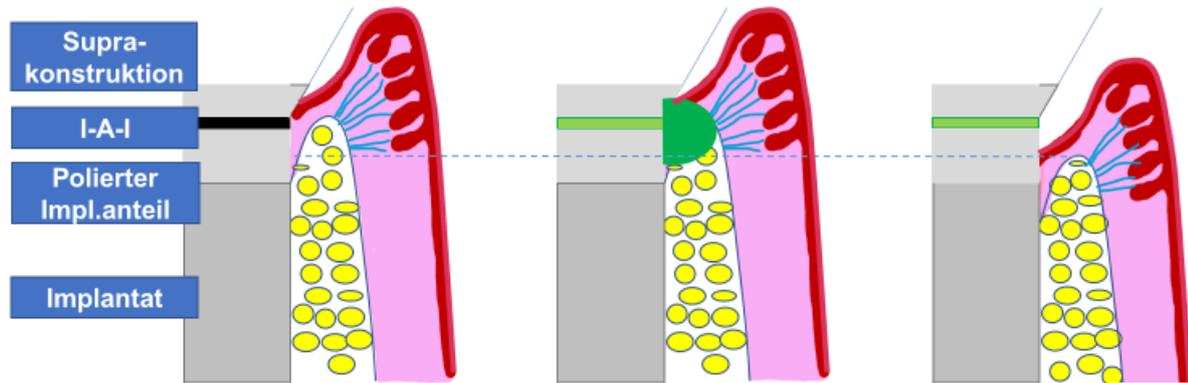


Abb. 4: Bakteriell kontaminierter Mikroschicht, der durch den Pumpeffekt zur Kontamination des Weich- und Hartgewebes führt und dadurch einen Knochenabbau verursacht (modifiziert nach Zipprich et al., 2007)

Die Relevanz des Mikroschichtes für die Entstehung einer periimplantären Entzündung lässt sich, Stand jetzt, nicht abschließend klären. Klar ist, dass eine bakterielle Kontamination stattfindet. Aus der Parodontologie ist bekannt, dass bestimmte Bakterienstämme für die Etablierung und das Voranschreiten einer Parodontitis verantwortlich sind (Haffajee und Socransky, 1994). Für periimplantären Knochenabbau wurde bereits eine Korrelation durch bestimmte Mikroorganismen im Implantatinnenraum beschrieben (Jervøe-Storm et al., 2015).

1.1.4 (Miss-)Erfolg in der Implantologie

Implantate sind den unterschiedlichsten Risiken ausgesetzt. Dies liegt zum einen an den verschiedenen Strukturen, aus denen sie bestehen, und den Geweben, mit denen sie kommunizieren. Zum anderen sind lokale und systemische Risikofaktoren auf der Patientenseite (s. **Abb. 5**) ebenso wie die Fähigkeiten des Zahnarztes und -technikers

entscheidend (Esposito et al., 2007). Diese Variabilität, angefangen bei der Planung des Zeitpunktes der Implantatinsertion mit Auswahl des Implantatsystems, endend mit einem adäquaten Nachsorgekonzept, macht es so schwierig, den (Miss-)Erfolg eindeutig zu bewerten.

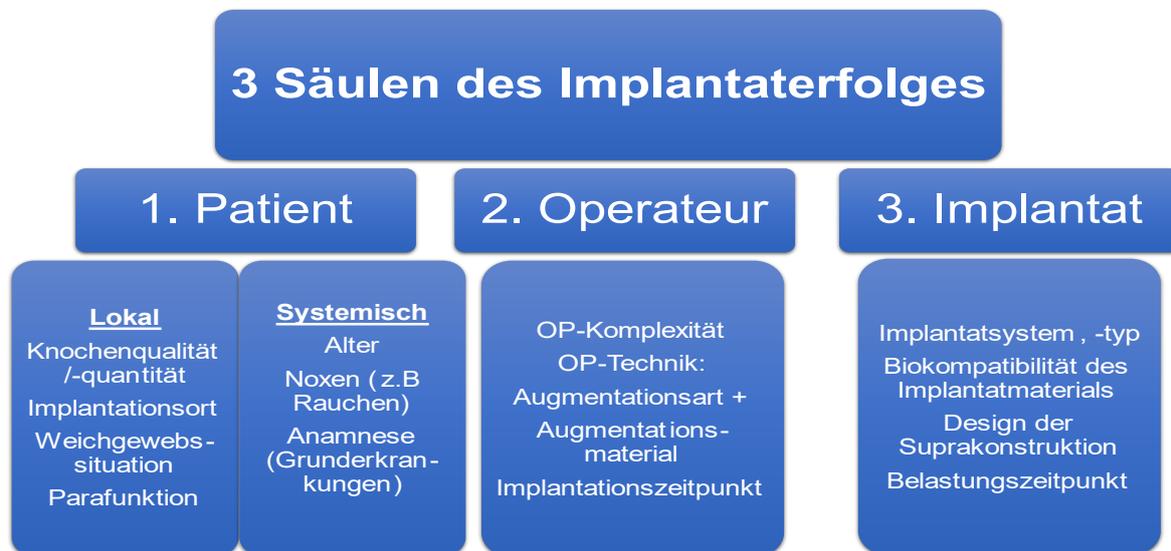


Abb. 5: Einteilung von Faktoren für das Implantatüberleben (modifiziert nach Esposito et al., 2007; Mombelli und Cionca, 2006)

Trotz der Widrigkeiten, denen dentale Implantate ausgesetzt sind, zeigen sie eine hohe Langzeitstabilität. Das Überleben von Implantaten über einen 10-Jahres-Zeitraum wird mit 96 % angegeben (Howe et al., 2019). Dennoch herrscht Konsens über die Notwendigkeit einer adäquaten Nachsorge (Kern und Wolfart, 2020). So können trotz hoher Komplikationsraten (Pjetursson et al., 2012) Faktoren wie biologisch entzündliche Prozesse (Mombelli et al., 2012) früh erkannt und therapiert werden. Berglundh et al. teilten Komplikationen in biologisch und technisch ein: Biologische Komplikationen sind Zustände wie Implantatverlust, sensorische Störungen, Weichteilkomplikationen, Periimplantitis und krestaler Knochenverlust. Technische Komplikationen sind Implantatfrakturen und technische Probleme mit Implantatkomponenten, Abutments oder Suprastrukturen (Berglundh et al., 2002).

1.2 Periimplantäre Zustände und Erkrankungen

1.2.1 Klassifikation periimplantärer Erkrankungen

Im Zusammenhang mit der neuen Parodontitis-Klassifikation ist erstmals eine allgemeingültige Einteilung periimplantärer Zustände bzw. Erkrankungen erfolgt (Berglundh et al., 2018). Diese wird nun eingeteilt in „periimplantäre Gesundheit“, „periimplantäre Mukositis“, „Periimplantitis“ sowie „Hart- und Weichgewebsdefekte am Implantationsort“ (Caton et al., 2018). Demnach definiert sich die „periimplantäre Gesundheit“ durch Fehlen von Entzündungszeichen, Sondierungsbluten und Knochenabbau. Wichtig dabei ist, dass Gesundheit auch bei reduziertem Knocheniveau bestehen kann (Araujo und Lindhe, 2018), ähnlich wie bei klinisch parodontaler Gesundheit im reduzierten Parodont. Treten Zeichen einer Entzündung ohne Knochenverlust auf, spricht man von einer „periimplantären Mukositis“. Diese wurde beim ersten europäischen Workshop für Parodontologie (1st EWP) als „reversible entzündliche Veränderung des Weichgewebes ohne Knochenverlust“ (Albrektsson et al., 1994) definiert. 2017 wurde die periimplantäre Mukositis als entzündliche Läsion, die durch Anlagerung eines Biofilms das mikrobielle Gleichgewicht des Wirtes auf mukosalem Level stört, bezeichnet. Die optimale Entfernung des Biofilms ist Voraussetzung zur Prävention und Kontrolle, die dadurch reversibel bleibt und sonst zum Vorläufer einer Periimplantitis (P-I) wird (Heitz-Mayfield und Salvi, 2018; Berglundh et al., 2018). Schwarz et al. definierten für den „2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions“ die P-I als pathologischen Zustand, der um dentale Implantate auftritt, durch Entzündung der anhaftenden Gewebe charakterisiert ist und progressivem Knochenverlust unterliegt. Der Übergang von einer periimplantären Mukositis zur Periimplantitis ist dabei nicht vollständig geklärt. Die Erkrankung kann bereits früh nach Insertion auftreten (Schwarz et al., 2018). Die P-I wird dabei häufiger bei Patienten ohne Adhärenz einer unterstützenden Nachsorge (UPT) beobachtet (Jepsen et al., 2015). Eine unzureichende Therapie der P-I führt zu einem Implantatverlust (Lindhe und Meyle, 2008).

1.2.2 Epidemiologie

Je nach festgelegten Kriterien ergeben sich etwas unterschiedliche Prävalenzen: 2013 ergab sich eine gewichtete Prävalenz von 63,4 % auf Patienten- und 30,7 % auf Implantatniveau für die periimplantäre Mukositis. Entsprechende Zahlen für die P-I ergaben 18,8 % und 9,6 %. Eine höhere Prävalenz bestand bei Rauchern und Patienten, die eine Vorgeschichte mit Parodontitis hatten (Atieh et al., 2013). Ähnliche Resultate gaben auch Mombelli et al. für die Entstehung einer P-I über einen Zeitraum von fünf bis zehn Jahren nach Implantation an (Mombelli et al., 2012). 2015 wurde eine gewichtete durchschnittliche Prävalenz für die periimplantäre Mukositis von 43 % und für die P-I von 22 % genannt, wobei auch zwischen Implantat und Patient unterschieden worden ist (Derks und Tomasi, 2015). Diese Untersuchungen sind alle vor der neuen Klassifikation erstellt worden und unterliegen uneinheitlichen Parametern bei der Definition periimplantärer Erkrankungen. Bakteriell induzierte entzündliche Prozesse um Implantate scheinen jedoch häufig aufzutreten.

1.2.3 Ätiologie und Pathogenese

Die Entstehung der P-I ist multifaktoriell (Derks und Tomasi, 2015). In erster Linie ist die P-I auf die Keimbesiedelung rund um das Implantat liegender Strukturen zurückzuführen (Berglundh et al., 2007). Durch Ansammlung von Plaque am Implantat entsteht bei einem zunächst periimplantär gesunden Gewebe eine periimplantäre Mukositis, da die Plaque zu einer Entzündungsreaktion des Weichgewebes führt (Jepsen et al., 2015). Es handelt sich demnach um eine Biofilm-Plaque assoziierte Erkrankung, da eine effektive mechanische Plaque-Kontrolle zu einer Abnahme der Entzündungsparameter führt (Berglundh et al., 2018). Wird die Ursache, also die Plaque Formation, nicht behoben, kann sich bei anhaltender Entzündung aus einer Mukositis eine P-I entwickeln, die verglichen zur Parodontitis mit einer größeren Zellinfiltration des Entzündungsgewebes verbunden ist (Schwarz et al., 2018). Die P-I kann während der Nachsorge der Implantate röntgenologisch überprüft werden. Laut wissenschaftlichem Konsens schreitet die P-I nicht-linear, schneller und mit einem höheren Maß an entzündlichen Läsionen voran als

die Parodontitis. Das chirurgische Trauma und eine Fehlpositionierung begünstigen die Entstehung der P-I ebenso wie das Vorliegen einer Parodontitis, unzureichende Pflege und allgemeingesundheitliche Risiken wie Diabetes und Rauchen (Schwarz et al., 2018).

1.2.4 Prävention

Ähnlich der Parodontitis scheint die effektivste Methode zur Prävention der P-I die mechanische Plaque-Kontrolle zu sein. Diese wird optimalerweise durch professionelle zahnärztliche Hygieneinstruktionen und mechanisches Debridement ergänzt (Jepsen et al., 2015). Eine vorhandene Parodontitis sollte, als Risikofaktor für die Entstehung einer P-I, vor einer Implantation therapiert werden (Schwarz et al., 2018).

1.3 Relevanz des oralen Mikrobioms

In der Mundhöhle des Menschen sind über 700 Bakterien sowie Pilze, Einzeller (Protozoen) (Meyer und Enax, 2018), aber auch Viren bekannt (Deng et al., 2017). Im gesunden Zustand kontrollieren sich die Mikroorganismen gegenseitig, auch wenn sie in einem komplexen Biofilm vorliegen. Dieses physiologische Gleichgewicht können einige Mikroorganismen, wenn sie einen Biofilm dominieren, durchbrechen, sodass keine Homöostase mehr gegeben ist (Meyer und Enax, 2018).

Bei der Parodontitis werden die vorwiegend gramnegativen anaeroben Bakterien in unterschiedliche Komplexe eingeteilt, die durch ihre Virulenzfaktoren bedingt sind (Socransky et al., 1998). Hierbei sind besonders die Bakterien des sogenannten „roten Komplexes“ hervorzuheben: *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*), *Tannerella forsythia* (*T.f.*), *Treponema denticola* (*T.d.*). *P. gingivalis* kommt dabei eine Schlüsselrolle zu, da es in dem Modell „polymikrobieller Synergie und Dysbiose“ (PSD) einen dysbiotischen Biofilm formt, der zu einer parodontalen und periimplantären Erkrankung führen kann (Hajishengallis und Lamont, 2012). Für die drei Pathogene des roten Komplexes ist eine starke Assoziation mit der Parodontitis nachgewiesen (Ezzo und Cutler, 2003).

Bei beiden Erkrankungen herrscht generelle Übereinkunft der häufigst vorkommenden Bakterien. Auch bei der P-I handelt es sich um eine unspezifische Mischflora (Belibasakis, 2014). Zumeist dominieren gramnegative Anaerobier (Mombelli und Décaillet, 2011). Welche Bakterienstämme nun im Einzelnen bei periimplantären Erkrankungen auftreten und welche Aufgabe sie bei der Entstehung bzw. Progression übernehmen, wird weiter untersucht (Dabdoub et al., 2013).

Bereits ohne Vorliegen klinischer Entzündungszeichen können opportunistische Pathogene im Sulkus gefunden werden. Speziell *Prevotella intermedia* (*P.i.*) und *Fusobacterium nucleatum* (*F.n.*) treten auch im gesunden Parodont auf, können jedoch bedingt durch das Fehlen eines PDL Implantate dauerhaft besiedeln und dadurch eine Immunantwort auslösen (Mombelli et al., 1995). Hierbei scheinen patientenindividuelle Wirtsfaktoren eine entscheidende Rolle für das Auftreten einer Entzündung zu spielen (Belibasakis et al., 2015).

1.3.1 Nachweis pathogener Mikroorganismen

In der Parodontologie gibt es klassischerweise zwei Methoden, die für den Nachweis pathogener Mikroorganismen zur Verfügung stehen: zum einen die bakterielle Kultivierung (Lebendkultur), zum anderen molekularbiologisch basierte Analysemethoden (Loomer, 2004).

Mit der Kultivierung ist eine Isolierung aller im Sulkus befindlichen Bakterien möglich, wobei die Nachweisgrenze bei 10^3 - 10^4 koloniebildenden Einheiten liegt. Es ist eine Quantifizierung der Bakterien sowie Bestimmung von Antibiotika-Resistenzen möglich (Loomer, 2004).

Alternative molekularbiologische Methoden sind Gen-Sonden in Kombination mit Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Sie bestehen z.B. aus markierten Nukleinsäure-Sequenzen, die gegen bakterielle DNA/RNA gerichtet sind. Für diese Verfahren werden keine koloniebildenden Bakterien benötigt (Loomer, 2004).

Die Vervielfältigung des bakteriellen Materials mit der PCR läuft nach einem exponentiellen Muster ab. Somit können geringere Zahlen von Mikroorganismen

nachgewiesen werden. In einem zweiten Schritt erfolgt dann der Nachweis der Mikroorganismen. Bei der Real-Time PCR (RT-PCR), einer Weiterentwicklung der ursprünglichen PCRs, wird während der Amplifikation zusätzlich eine Sonde eingesetzt, die mit einem Fluoreszenz-Farbstoff verbunden ist. Während der Vervielfältigung des DNA-Materials wird ein Fluoreszenz-Signal freigesetzt. Je mehr bakterielles Material vorhanden ist, desto höher ist das Signal. Somit kann durch eine automatisierte Laserdetektion das Fluoreszenz-Signal gemessen und die Reaktion als exponentielle Kurve dargestellt werden. Dies ermöglicht eine direkte Quantifizierung. Der Nachweis liegt meist zwischen 10^2 und 10^8 Bakterien in einer einzelnen Bakterienprobe. Ein Vergleich zwischen Lebendanzucht und RT-PCR wurde anhand von 78 subgingivalen Plaqueproben von Patienten mit Parodontitis durchgeführt (Jervøe-Storm et al., 2005). Es wurde gezeigt, dass eine moderate bis sehr gute Übereinstimmung zwischen beiden Methoden vorhanden ist.

1.4 Dekontamination von Implantaten

1.4.1 Externe Dekontamination von Implantaten

Mechanisch: Bei der mechanischen Dekontamination stehen grundsätzlich Hand- und Ultraschallinstrumente zur Verfügung. Die Handinstrumente bestehen dabei je nach Hersteller aus Karbonfasern, Teflon oder Titan. Diese können durch ein Glycin-gestütztes Air Polishing ergänzt werden. Im Bereich der physikalischen Therapieformen können z.B. Laser oder eine antimikrobielle photodynamische Therapie (aPDT) in Erwägung gezogen werden. Für die jeweiligen Arten chirurgischer Protokolle wird keine generelle Empfehlung gegeben (Schwarz et al., 2015b).

Chemisch: Verschiedene Antiseptika können als Adjuvantien bei der Dekontamination der Implantatoberfläche verwendet werden. In der Implantologie hat sich zur chemischen Dekontamination, wie in anderen zahnmedizinischen Teilbereichen auch, Chlorhexidin (CHX) bewährt (Lang et al., 1997), entweder als Spülflüssigkeit (0,2 %), in Form eines Gels (1 %) oder als Chip (38 %). Daneben sind Antibiotika bei der Dekontamination

denkbar, wobei bei der nicht-chirurgischen Therapie einzig lokale Antibiotika Verwendung finden (Schwarz und Becker, 2016).

1.4.2 Interne Dekontamination des Implantatinnenraumes

Mechanisch: Der Biofilm als entscheidende Ursache periimplantärer Erkrankungen haftet nicht nur am Implantatkörper, sondern auch an dessen Übergang zum prothetischen Aufbau, weshalb es einer adäquaten Dekontamination bedarf (Canullo et al., 2013). Dabei ist die besondere Struktur des Innenraumes zu beachten: Der Innenraumdurchmesser ist sehr gering, der Implantatboden mit ca. 13 mm verhältnismäßig weit weg und somit schwer zugänglich.

Chemisch: Derzeit beschäftigen sich Studien zur Minimierung der bakteriellen Last am IAI einerseits mit der Spülung des Implantatlumens, andererseits mit dessen Abdichtung (D'Ercole et al., 2009; Duarte et al., 2006; Groenendijk et al., 2004). Hierbei wird zumeist auch auf CHX in Form einer Spüllösung bzw. eines Lackes zurückgegriffen, wobei der Innenraum nach einiger Zeit wieder kontaminiert wird. Auch andere klinisch verwendbare Chemotherapeutika wie H_2O_2 sind denkbar (Jervøe-Storm et al., 2021).

1.5 Kaltes atmosphärisches Plasma

1.5.1 Grundlagen von Plasmen

Materie erscheint uns in verschiedenen Formen, je nachdem, in welchem Aggregatzustand sie vorliegt. Klassischerweise wird zwischen drei Zuständen unterschieden. Mit Zufuhr von Energie kann die Materie in der Reihenfolge fest, flüssig, gasförmig den Aggregatzustand ändern. Dabei nimmt die Ionisation und entsprechend die Reaktivität zu. In der Physik wird jedoch ein weiterer Aggregatzustand, als „Plasma“ bezeichnet, unterschieden: Wärmeenergie oder elektrische Felder können aus einem Gas ein Plasma generieren (Conrads und Schmidt, 2000). Dieses Plasma wird elektrisch leitfähig, indem es zumindest partiell zur Ionisation der Teilchen sowie dem Herauslösen

von Elektronen aus dem Gas kommt. Die Elektronen sind dann frei beweglich. 95 % der sichtbaren Materie befindet sich im Plasmazustand, u.a. in Formen von Blitzen, Polarlichtern oder der Sonne (Gerling und Weltmann, 2016).

Bei der Erzeugung von Plasmen unter Atmosphärendruck werden thermische und nicht-thermische Quellen unterschieden (Gerling und Weltmann, 2016).

Die Nutzung von Plasmen in der Human- und Zahnmedizin ist ein interdisziplinäres Fach der „Physik und Lebenswissenschaften“ (Woedtke et al., 2016). Hier spielen überwiegend nicht-thermische Plasmen eine Rolle, die sich wiederum in heiße und kalte Plasmen unterteilen lassen. Dabei überwiegt der Effekt des Abkühlens der Ionen und ungeladenen Molekülen gegenüber der Energieabgabe von den Elektronen, sodass das Gas auf geringerer Temperatur verbleibt. Es stellt sich somit kein thermodynamisches Gleichgewicht ein (Fridman et al., 2008). Bei den nicht-thermischen Plasmen ist die Temperatur der Ionen (T_i) entscheidend. In heißen Plasmen liegt diese zwar unterhalb der der Elektronen (T_e), ist jedoch weiterhin deutlich höher als die Umgebungsluft (T_g), wobei gilt: $T_e \leq 10^4 - 10^5 \text{ K}$; $T_i \approx T_g \leq 4 \times 10^3 \text{ K}$ (Gerling und Weltmann, 2016).

Beispielhaft sei die Argon-Plasmakoagulation genannt (Weltmann und Woedtke, 2011).

Die Wirkung basiert auf thermischen Hochfrequenzverfahren, die zu einer Schrumpfung und Abtragung von Gewebe sowie Gefäßverödung und damit Blutstillung genutzt werden können (Stalder und Woloszko, 2007).

1.5.2 Kaltplasma

Für die Anwendung bei Menschen und damit lebenden Geweben spielen hauptsächlich Kaltplasmen eine Rolle. In der englischsprachigen Literatur finden die Bezeichnungen APP (atmospheric pressure plasma) (Laroussi, 1996; Claire Tendero et al., 2006), und CA[P]P (cold atmospheric [pressure] plasma) Verwendung. Die Spezifizierung des Atmosphärendrucks rührt daher, dass zunächst Niederdruckplasmen verwendet wurden. Diese haben jedoch den Nachteil, dass sie eine Vakuumkammer zur Erzeugung benötigen (Woedtke et al., 2013).

Kaltplasmen bieten ähnliche Vorteile wie Heißplasmen, jedoch ohne den gewebescheidenden Nachteil zu widerfahren (Helmke, 2016). Den kritischen Punkt stellt somit die Temperatur dar, die unter 40 °C betragen sollte. Bis zu dieser Temperatur treten keine irreversiblen zellulären Schäden, darüber hinaus jedoch Hyperthermien auf (Zenker, 2008). Bei diesen Kaltplasmen liegt die Elektronentemperatur um einige eV, sie produzieren kein nennenswertes magnetisches Feld und die Partikeldichte liegt unterhalb der von Luft bei 0 °C (Bellan, 2006). Beispiele für kalte Plasmen aus dem alltäglichen Leben sind Neonschilder und Fluoreszenzlampen (Kogelschatz, 2004; R. Suchentrunk et al., 1997). Nachdem bereits in den 1960er Jahren Heißplasmen in der Medizintechnik Verwendung fanden, ergaben sich neue Möglichkeiten zur Verwendung von Kaltplasmen: zunächst bei der Modifikation von Oberflächen zur Verbesserung der Biokompatibilität (Pietro Favia und Riccardo d'Agostino, 1998). Denn medizinisch verwendete Geräte wie z.B. Implantate sind primär abiotisch, kommen durch Verwendung beim Menschen jedoch mit der mikrobiellen Umwelt in Kontakt (Woedtke et al., 2013). Aus diesem Grund entstand der Forschungstrend zur Sterilisation und Bio-Dekontamination von Mikroorganismen (Laroussi, 1996). Konsequenterweise fanden, abgeleitet aus der Nutzbarkeit auf dem Gebiet der Hygiene, Atmosphärendruckplasmen Einzug in die Medizin im eigentlichen Sinne, nämlich der direkten Behandlung auf oder innerhalb von Zellen des menschlichen Körpers (Laroussi et al., 2008). Denn auch dort spielen Mikroorganismen eine entscheidende Rolle. Somit stellt die Antisepsis thermisch sensibler Oberflächen wie die der Körperzellen, beispielsweise bei Hautkrankheiten oder Wundinfektionen, den Fokus derzeitiger Plasmaforschung dar (Kong et al., 2009; Morfill et al., 2009). Neben der inaktivierenden Wirkung auf Mikroorganismen können Kaltplasmen darüber hinaus die Zellproliferation stimulieren (Arndt et al., 2013), sodass eine Regeneration des therapierten Gewebes im Rahmen der Wundheilung stattfinden kann.

Die Zusammensetzung des Plasmas hängt im Einzelfall von drei Parametern ab: 1. dem verwendeten Gas(-gemisch); 2. der Art der Energie zur Plasmaerzeugung; 3. den Druckverhältnissen (Gerling und Weltmann, 2016).

Dieses an und für sich nicht wirksame Gas(-gemisch) wie z.B. Luft, die u.a. Sauerstoff und Stickstoff enthält, wird durch einen zumeist elektrischen Energiezufluss zum Teil ionisiert. Daneben entstehen auch freie Elektronen. Das entstandene Gemisch tritt im

Plasma miteinander sowie mit seiner Umgebung, z.B. einer Flüssigkeit, eines Nährmediums, in Kontakt. Hierdurch entsteht ein biologisch wirksamer Cocktail aus zum einen unterschiedlichen Wellenlängen des elektromagnetischen Spektrums, zum anderen angeregten reaktiven Spezies (Nationales Zentrum für Plasmamedizin, 2018).

Die Wirkung des Kaltplasmas beruht unabhängig von der Zusammensetzung und der im Einzelfall unterschiedlichen Sensitivität der Zellen auf grundlegenden biologischen Mechanismen: Es wird angenommen, dass es zu einer Wechselwirkung der Zielzellen mit den redoxaktiven Sauerstoff- (ROS) und Stickstoffspezies (RNS) kommt (Neuber, 2016; Woedtke et al., 2016). Diese Veränderung der Zellen durch eine modifizierte Redoxbiologie macht im Wesentlichen den Kern der Kaltplasmatherapie aus: Die aus der Plasmaphase entstandenen extrem kurzlebigen Spezies lösen weitere Signalkaskaden aus, die physiologische Stoffwechselprozesse in Kraft setzen (Graves, 2014a).

Es werden direkte von indirekten Effekten unterschieden, wobei bei den direkten neben ungeladenen Spezies auch Ladungen in Form von Elektronen sowie Ionen eine Rolle spielen. Bei indirekten Effekten kommt es zunächst zu einer Wechselwirkung des Kaltplasmas mit einem Medium, z.B. einer Flüssigkeit, welche Signalkaskaden auslöst, die dann wiederum mit den zu behandelnden Zellen interagieren (Fridman et al., 2007).

Im klinischen Alltag lassen sich Konzentrationen von Radikalen generieren, die für menschliche Zellen unbedenklich, für Bakterien jedoch toxisch sind (s. **Abb. 6**) (Nosenko et al., 2009). Ob die Wirkung des Kaltplasmas im Einzelfall für die behandelten Zellen der beteiligten Gewebe und Mikroorganismen zum Zelltod bzw. zur Zellproliferation führt, hängt von Faktoren wie der Dosis, Distanz zum Medium, Behandlungsfrequenz und der Applikationsdauer ab (Dijksteel et al., 2020; Gupta et al., 2017; Handorf et al., 2018; Idlibi et al., 2013), weshalb man letale von stimulierenden Effekten unterscheidet (Haertel et al., 2014).

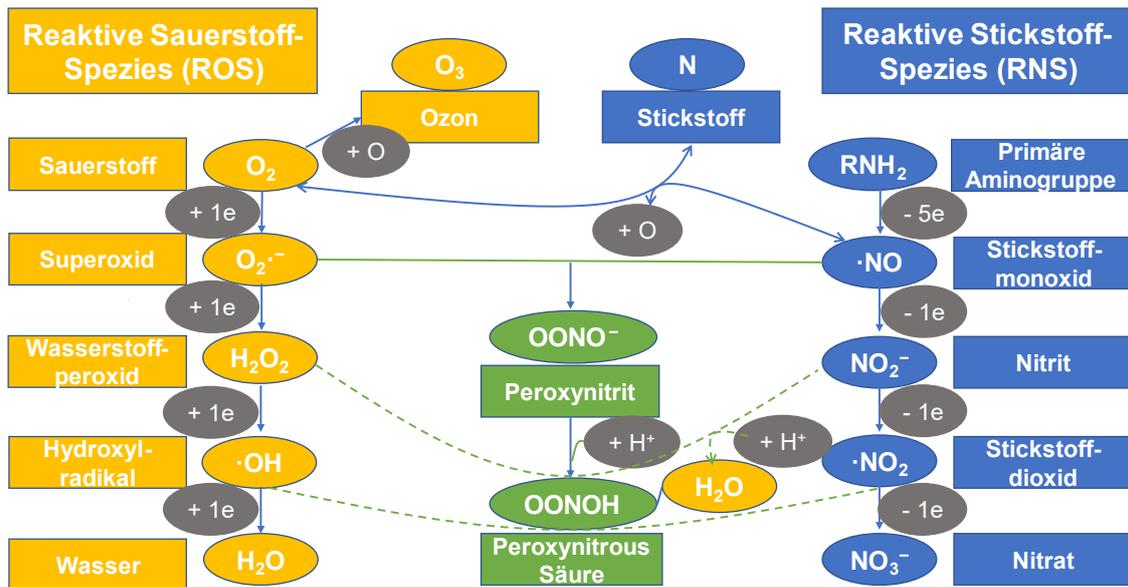


Abb. 6: Ausblick einiger Möglichkeiten von ROS-/RNS-Radikalen (modifiziert nach Fang, 2004; Nathan und Shiloh, 2000, ergänzt um ROS-Formationen von Mai-Prochnow et al., 2021)

Es gibt unterschiedliche Aussagen über die Plasmawirkung auf eukaryotische Zellen (Stoffels et al., 2008). Entsprechend wird auch eine letale Wirkung auf einige Tumorzellen beschrieben (Graves, 2014b; Woedtke et al., 2016; Yan et al., 2017). Nicht letale Effekte werden ebenfalls auf redoxaktive Spezies zurückgeführt, wobei sie genauso zeit- und dosisabhängig sind. So kann es sein, dass bei geringer Behandlungsdauer keine negativen Konsequenzen für gesunde humane Zellen entstehen, wenngleich es zur Inaktivierung von Mikroorganismen kommt (Haertel et al., 2013). Weiterhin beeinflusst Kaltplasma auch die Proliferation und Angiogenese, die dosisabhängig stimulierend wirken kann, jedoch über einen Schwellenwert hinaus den Zelltod nach sich zieht (Kalghatgi et al., 2010).

Diese biophysikalischen Effekte auf Zellebene bergen das Risiko potentieller Nebenwirkungen (Weltmann et al., 2010), wenngleich laut aktueller Leitlinie bei korrekter Anwendung keine unerwünschten Nebenwirkungen bekannt sind (Metelmann, 2022).

1.5.2.1 Überblick möglicher Anwendungsgebiete

Durch die generellen biologischen Effekte von Plasma auf sowohl Mikroorganismen (Prokaryoten) als auch Säugerzellen (Eukaryoten) sind je nach Anwendungsort, also Haut bzw. Schleimhaut oder Organ und der Frage nach einer vorliegenden Infektion bzw. Kontamination entsprechend unterschiedliche Anwendungsbereiche denkbar (Woedtke et al., 2016):

Biomedizin:

- a. Oberflächenkonditionierung (mittels thermischer oder heißer, nicht-thermischer Plasmen)
- b. Blutkoagulation, Koablation (mittels Heißplasmen)
- c. Desinfektion und Sterilisation

Medizinische Verwendung von Kaltplasmen:

- d. Antimikrobielle Anwendung
- e. Wundheilung
- f. Tumortherapie
- g. Zahnmedizin:
 - i. Endodontie
 - ii. Parodontologie
 - iii. Implantologie

1.5.3 Subtypen von Kaltplasmageräten

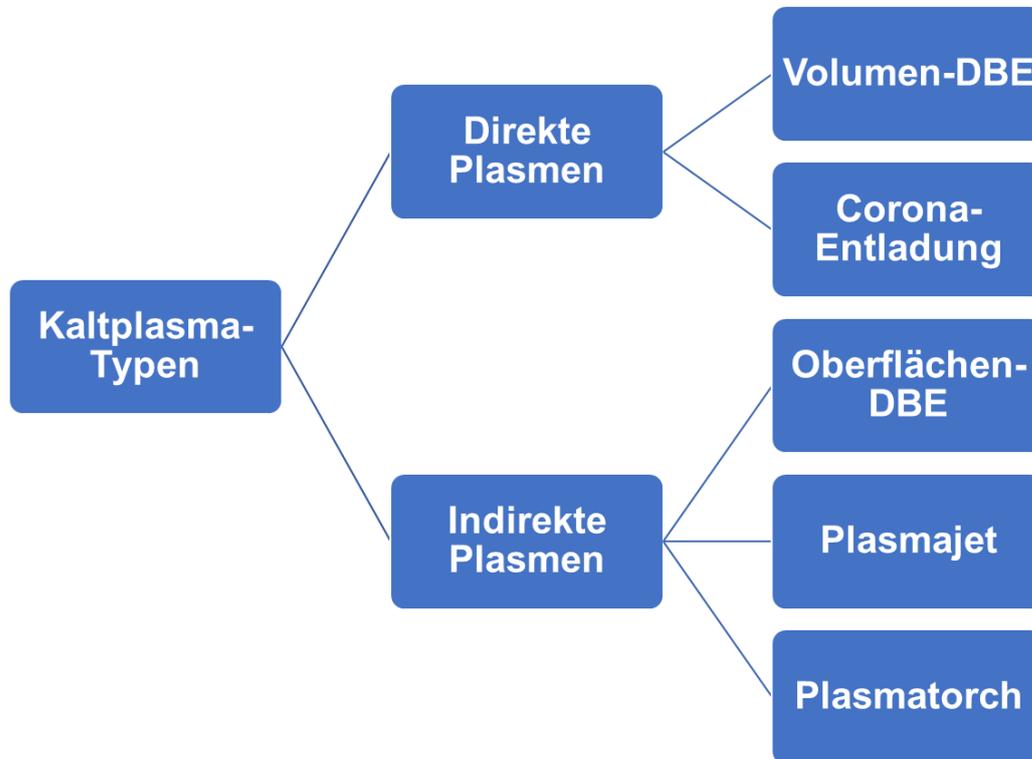


Abb. 7: Möglichkeit zur Einteilung gängiger Modifikationen von Plasmageräten. Zur besseren Übersicht wird auf weitere Subtypen verzichtet und nur auf die gängigsten Geräte eingegangen (modifiziert nach Helmke, 2016). Je nach Gewichtung unterschiedlicher Autoren werden z.B. Plasmatorch und -jet auch zusammengefasst.

Es herrscht keine einheitliche Einteilung für Kaltplasmen. Je nach Entladungskonzept lassen sich jedoch die folgenden Variablen unterscheiden:

1. Die Leistung: Sie kann von 10 mW bis 10 W variieren.
2. Das Trägergas: Es kann ein molekulares Gasgemisch wie z.B. Luft sein, aber auch Helium und Argon sind umsetzbar (Weltmann et al., 2010).

Ordnet man die häufigst angewendeten Systeme nach dem Einfluss des behandelnden Mediums auf den Stromkreis ein, lassen sich diese zwei Subtypen von Kaltplasmen unterscheiden:

- 1) Direkte Plasmen und 2) Indirekte Plasmen.

1) Direkte Plasmen

Hierbei dient das behandelte Medium, z.B. humanes Gewebe, als Gegenelektrode und ist somit in den Stromkreis integriert. Hierzu wird normalerweise ungeströmte Umgebungsluft zur Plasmaerzeugung verwendet. Die dadurch erzeugten kurz- sowie langlebigen Spezies treten dann wiederum mit der behandelten Oberfläche in Wechselwirkung (Helmke, 2016). Zu den direkten Plasmen zählen Volumen-DBE und Koronaentladungen (Corona Discharge) (s. **Abb. 7**) (Lu et al., 2012; Weltmann et al., 2010).

Dielektrische Barriereentladung (DBE), im Englischen als Dielectric Barrier Discharge (DBD) bezeichnet, heißen so, weil mindestens eine der Elektroden mit einem Isolator, also Dielektrikum, von der anderen elektrisch abgeschirmt wird. Wie der Name schon sagt, breitet das Plasma sich bei den Volumen-DBE auch im Volumen zwischen den Elektroden aus.

2) Indirekte Plasmen

Der Stromkreis und damit die Plasmaerzeugung ist unabhängig vom Medium und somit in sich geschlossen. Hierzu zählen Oberflächen-DBE, Plasmajets und -torches.

Während die Oberflächen-DBEs wie die direkten Plasmen die Umgebungsluft als Gas verwenden, werden bei den Jet- und Torch-Anordnungen häufig Argon oder Helium verwendet. Beim Oberflächen-DBE entsteht das Plasma an der Oberfläche des Dielektrikums am Übergang der Gegenelektrode, beim Jet und Torch entsteht es in einer Kavität des Gerätes, in der auch das Gas zugeführt wird und somit auch das Plasma entsteht. Dieses mischt sich als sog. Effluent beim Austritt aus der Kavität mit der Umgebungsluft (s. **Abb. 8**) (Helmke, 2016).

Laut Leitlinie zum therapeutischen Einsatz von kaltem atmosphärischen Plasma werden „Medizingeräte, die einen Plasmateppich erzeugen [...], für die Behandlung großflächiger, ebener Areale“ verwendet, während Anordnungen, „die Plasma als Jet oder Torch erzeugen [...], für die Behandlung von tiefen Wundkratern, Fistelgängen, unter-sich-gehenden Arealen und in Höhlen“ geeignet sind (Metelmann, 2022).

Grundsätzlich besteht ein Kaltplasmagerät aus einem meist kabelgebundenen Handstück, aus welchem das Plasma heraustritt, und einem Steuergerät (s. **Abb. 8**) (Helmke, 2016).

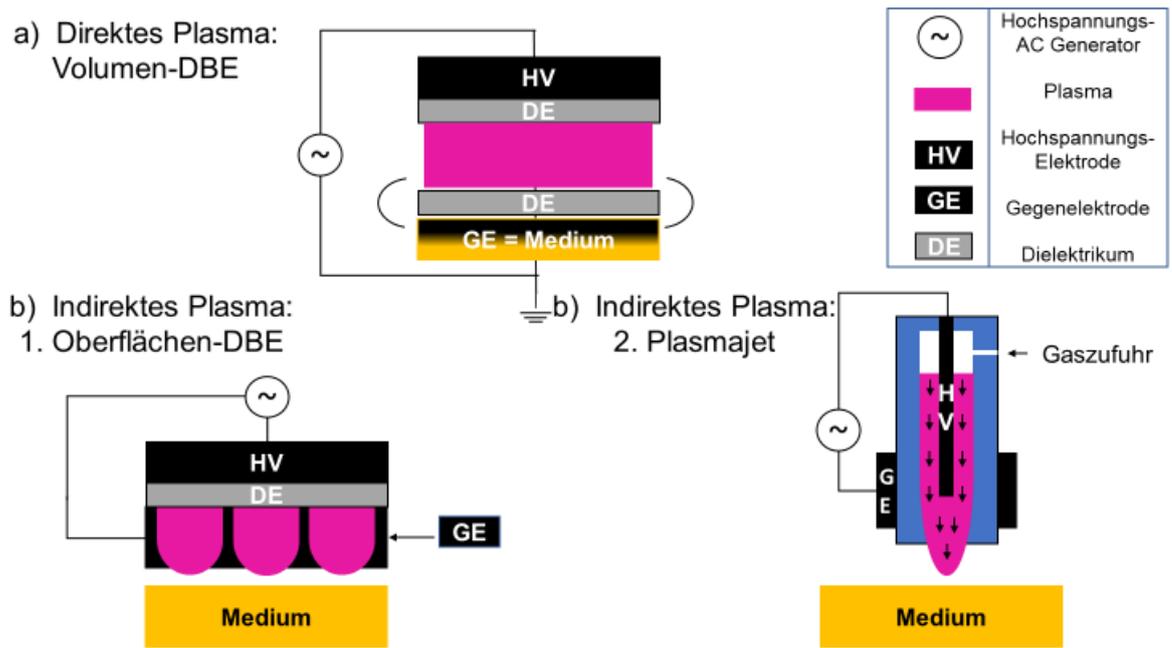


Abb. 8: Funktionsweise der gängigsten Gerätemodifikationen (modifiziert nach Weltmann et al., 2010)

Gemeinsam haben alle Geräteformen, dass sie einen sehr gezielten Wirkungsbereich haben. Während dies für breitflächige Sterilisationsprozesse in der Hygiene von Nachteil ist, bietet es für Produkte mit komplexer Geometrie eine entscheidende Möglichkeit gegenüber anderen Therapieformen (Woedtke et al., 2013).

2 Ziel der Arbeit / Fragestellung / Arbeitshypothesen

Ziel der *in-vitro*-Untersuchung war es, die Effektivität der Anwendung von kaltem atmosphärischen Plasma gegenüber der reinen Spüllösung für die Dekontamination des Implantatinnenraumes zu untersuchen. Zum Einsatz kamen zwei bereits erprobte Spüllösungen, die klinisch standardmäßig zur Dekontamination dentaler Implantatinnenräume eingesetzt werden (Kolonidis et al., 2003; Lang et al., 1997). Zur Erzeugung des Kaltplasmas haben wir das Volumen-DBE Gerät Plasma One (plasma MEDICAL SYSTEMS GmbH, Nassau, Deutschland) verwendet. Dieses direkte Plasma nutzt als Gegenelektrode ein Medium – also wie in dieser Studie ein Implantat oder potenziell auch die Schleimhaut (Eggers et al., 2020). Der Entladungsstrom wird bei diesen Geräten durch ein Dielektrikum wie in unserem Fall Glas begrenzt, an dem sich die freien Ladungsträger sammeln und es letztlich zu fadenförmigen Mikroentladungen kommt (Helmke, 2016).

Hieraus ergab sich folgende Primärhypothese:

I. Die zusätzliche Therapie mit Plasma ist einer alleinigen Spülung für die Dekontamination in Bezug auf die Total Bacterial Load (TBL) Reduktion sowie der einzelnen untersuchten Spezies überlegen.

Ableitend hiervon ergaben sich folgende Sekundärhypothesen:

II. Es gibt einen signifikanten Unterschied in der Wirkung zwischen NaCl und CHX.

III. Die Kombination von Plasma und CHX ist signifikant effektiver in der Dekontamination des Implantatinnenraumes als die Kombination Plasma und NaCl, gemessen an der Reduktion des TBL und der einzelnen Spezies.

3 Material und Methoden

3.1 Material



Abb. 9: Übersicht der verwendeten Materialien: Spüllösungen links; sterile Papierspitzen, Messlehre, kontaminierte Implantate zentral; Plasma-One-Gerät rechts

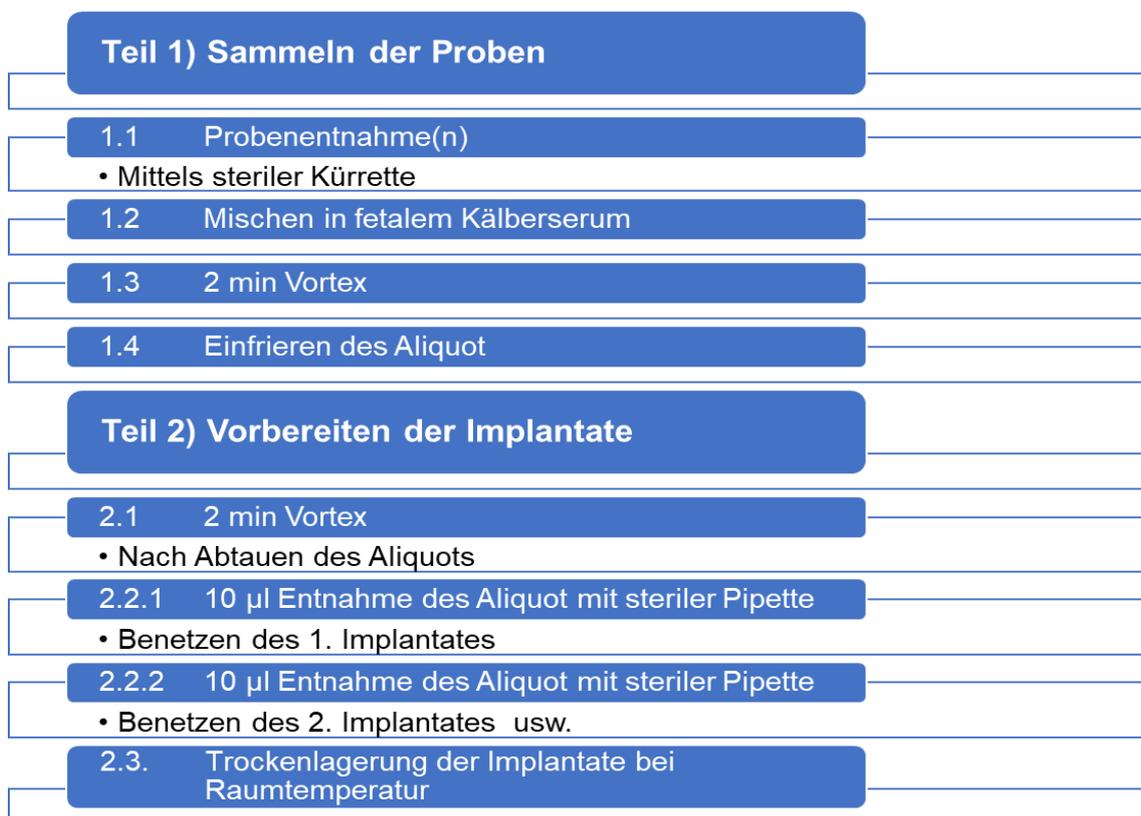


Abb. 10: Geräte zur Kontamination der Implantate: Pipette, Eppendorf Tubes mit Aliquot, Vortex IR und sterile Implantate (n=10)

3.2 Methoden

3.2.1 Versuchsablauf

Der Versuchsablauf gliedert sich in 3 Teile, die im Folgenden graphisch dargestellt werden (s. **Abb. 11**). Um eine Kontamination der Implantatinnenräume durchführen zu können, mussten die zuvor gesammelten anonymen Proben zu einer gepoolten Standardprobe zusammengefasst werden (s. **3.2.2**). Die Gesamtprobe wurde in mehrere Aliquots aufgeteilt. Das einzelne Aliquot musste für jeden Versuchstag aufgetaut, zentrifugiert und in die einzelnen Implantatinnenräume gegeben werden. 24 Stunden später konnte der eigentliche Versuchsteil durchgeführt werden.



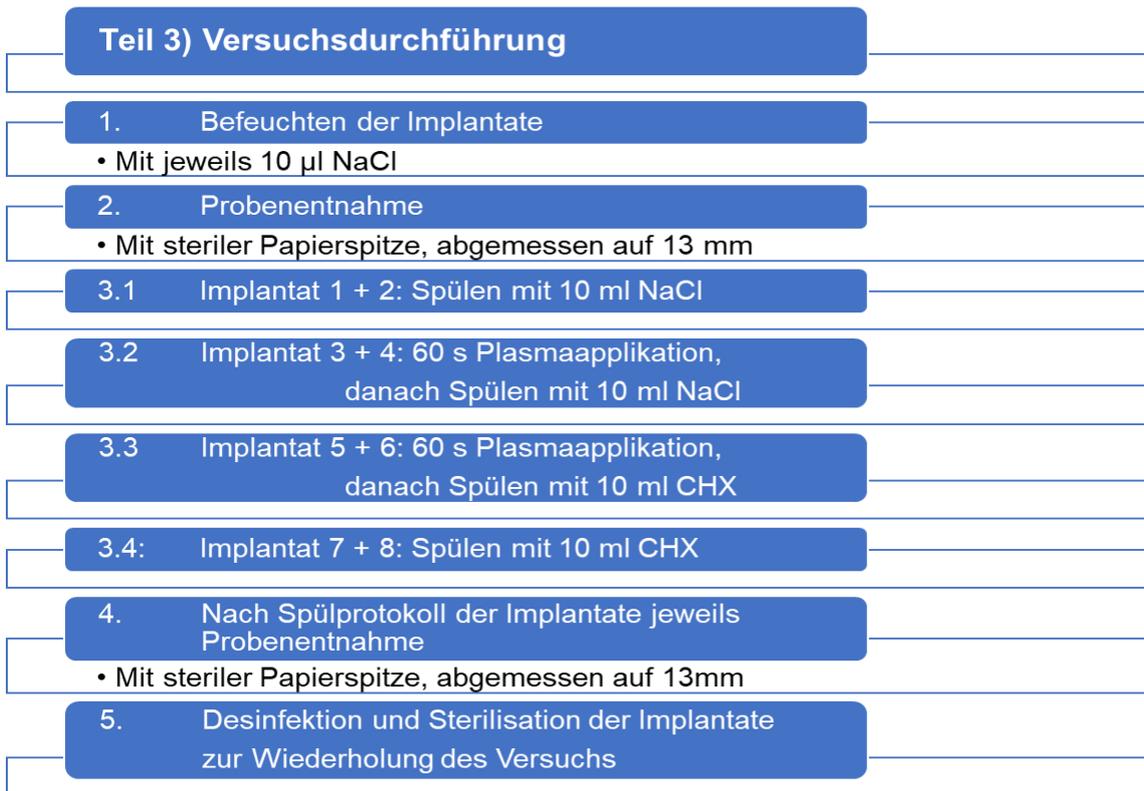


Abb. 11 a-b): Chronologische Gliederung der Versuchsdurchführung

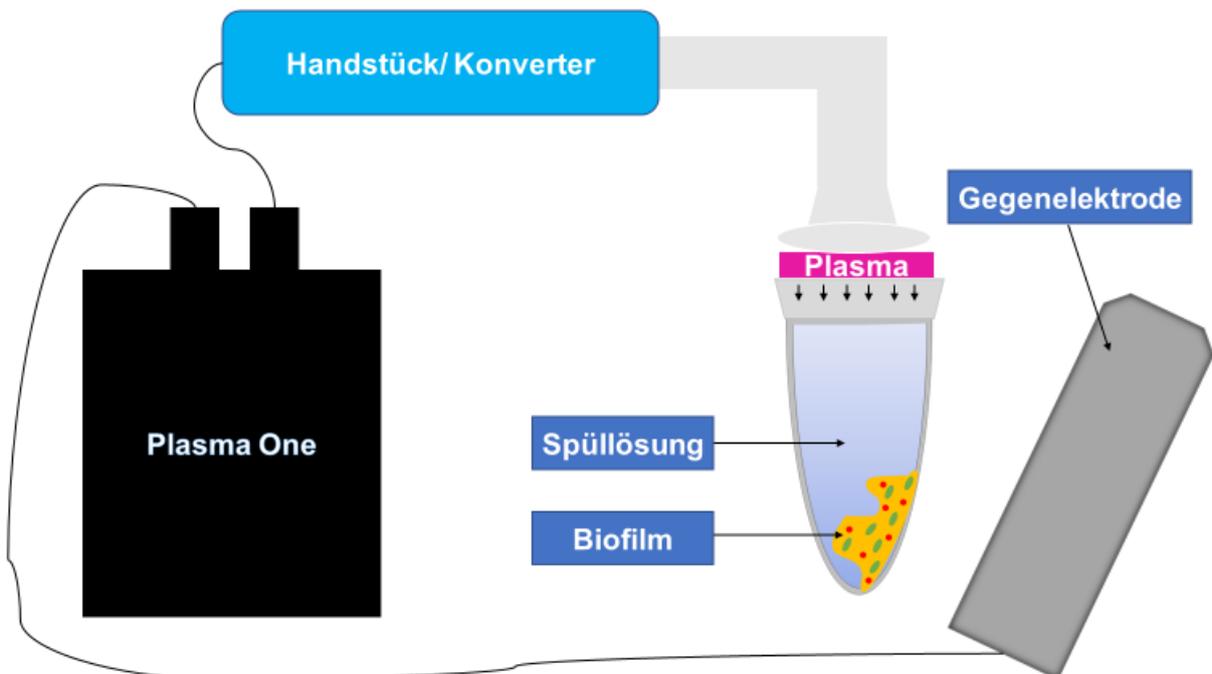


Abb. 12: Versuchsaufbau

3.2.2 Probengenerierung

Vor Beginn der Studie wurde eine Unbedenklichkeit der Ethikkommission an der Medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn für die anonymisierte subgingivale Plaqueentnahme eingeholt (Nr.: 433/19).

Die Proben für diese Studie wurden von fünf Patienten entnommen, die sich in parodontologischer Behandlung der Poliklinik für Parodontologie, Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde des Universitätsklinikums Bonn befanden und Sondierungstiefen über 5 mm aufwiesen. Das Patientenkollektiv wurde zufällig ausgewählt. Die Patienten durften keine Allgemeinerkrankungen haben, die eine Antibiotikatherapie/ -prophylaxe für die Probenentnahme notwendig machen würde. Des Weiteren sollte bei der Sondierung kein Pus aus der Tasche treten. Ansonsten gab es keine Ausschlusskriterien. Alle befragten Patienten willigten nach einem Aufklärungsgespräch ein, die Biofilmaablagerungen, die normalerweise während der subgingivalen Zahnreinigung abgesaugt werden, anonym abzugeben.

Zur Probenentnahme wurden sterile Küretten benutzt. Alle Proben wurden durch den gleichen Behandler entnommen. Anschließend wurden die gewonnenen Plaqueproben in fetales Kälberserum übertragen.

3.2.3 Molekularbiologische Diagnostik mittels Real-Time PCR (RT-PCR)

In der vorliegenden Studie wurde die Probenanalyse der Gesamtbakterienzahl sowie der einzelnen Bakterienstämme verblindet mittels RT-PCR (Carpegen PerioDiagnostik, Carpegen, Münster, Deutschland) in einem spezialisierten Labor (Oro-Dentale Mikrobiologie / Labor Dres. Hauss, Kiel, Deutschland) durchgeführt.

Die Laborergebnisse wurden erst zur Verfügung gestellt, als alle Versuche vollständig abgeschlossen waren. Zwischen den einzelnen Versuchsreihen wurden die Implantate gereinigt, desinfiziert und sterilisiert, um die gleichen Bedingungen für jede Gruppe zu

schaffen. Hiernach mussten die Implantate wieder mittels Aliquot benetzt und für 24 Stunden inkubiert werden. Somit lagen aufgrund der Wartezeiten für die Benetzung sowie der Wiederaufbereitung der Implantate nach Versuchsdurchführung zwischen den Versuchen mindestens 48 Stunden. Der zeitliche Versatz der Versuchsreihen hat durch die Verfahrensweise der RT-PCR keine Auswirkung auf das Ergebnis.

3.2.3.1 Parodontalpathogenes Spektrum

Folgende Mikroorganismen wurden analysiert (Komplexe nach (Socransky et al., 1998)):

Roter Komplex: *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*), *Tannerella forsythia* (*T.f.*), *Treponema denticola* (*T.d.*);

Orangener Komplex: *Fusobacterium nucleatum* (*F.n.*), *Parvimonas micra* (*P.m.*), *Campylobacter rectus* (*C.r.*);

Grüner Komplex: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Serotyp A) (*A.a.*), *Eikenella corrodens* (*E.c.*);

Blauer Komplex: *Actinomyceten* Spp.

Darüber hinaus wurde der Hefepilz *Candida albicans* (*C.a.*), der ebenfalls in Zusammenhang mit Parodontitis bzw. P-I gebracht wird, untersucht.

Als Detektionsgrenze wurde für die pathogenen Mikroorganismen 10^3 festgelegt, dagegen für die *Actinomyceten* Spp. 10^1 .

3.2.4 Statistisches Analyseverfahren

Die statistische Auswertung erfolgt mit der Software SPSS (IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0. Armonk, USA).

Folgende Hypothesen sollten anhand der Reduktion der Gesamtbakterienzahl (TBL) und der einzelnen Spezies (*P.g.*, *T.f.*, *T.d.*, *F.n.*, *P.m.*, *C.r.*, *E.c.*, *C.a.*, *Actinomyceten* Spp.) untersucht werden:

i. Die zusätzliche Therapie mit Plasma bei einer Spülung ist der alleinigen Spülung für die Dekontamination überlegen.

Sekundäre Hypothesen:

ii. Es gibt einen signifikanten Unterschied in der Wirkung zwischen NaCl und CHX.

iii. Die Kombination von CHX und Plasma ist effektiver in der Dekontamination des Implantinnenraumes als die Kombination Plasma und NaCl.

Der Vergleich der einzelnen Reduktionen wurde mittels Mann-Whitney-U-Test untersucht, da es sich um unabhängige Datensätze mit zwei Variablen handelt, nämlich der Reduktion von einzelnen Pathogenen bzw. dem TBL. Die Reduktion wiederum ergibt sich aus der Differenz zwischen dem gemessenen Ausgangs- und Endwert. Die Reduktionen der einzelnen Implantate lassen sich deshalb nicht hinsichtlich ihrer Abstände interpretieren, jedoch in eine Rangfolge bringen. Aus diesem Grund ist nur ein U-Test möglich, wenn z.B. die Gruppe NaCl mit der Gruppe NaCl + Plasma verglichen werden soll. Für das TBL wurde zusätzlich ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt, um die vier Versuchsgruppen gleichzeitig hinsichtlich eines signifikanten Unterschieds in der bakteriellen Reduktion mit einer der Versuchsmethoden zu überprüfen. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt.

Ziel der statistischen Analyse war somit, den Einfluss des Kaltplasmas in Abhängigkeit der verwendeten Spüllösung auf die Bakterienreduktion zu untersuchen.

Die Gruppengrößen wurden an eine frühere Untersuchung zur Dekontamination von Implantatinnenräumen angelehnt (Jervøe-Storm et al., 2021).

4 Ergebnisse

Zur besseren Übersicht werden die einzelnen Werte der jeweils 10 Implantate als Zehntausendstel des Originalwertes angegeben. Dies entspricht dem Umwandlungsfaktor $\times 10^4$. Die pathogenen Mikroorganismen sind farblich entsprechend ihrer Komplexzugehörigkeit dargestellt (Socransky et al., 1998).

4.1 Ausgewählte Zielbakterien/ -pathogene

Aus Übersichtsgründen werden die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen im Anhang dargestellt (vgl. **Tab. 7-10** in **8.2**).

4.1.1 Gesamtbakterienzahl (TBL)

Die Kombination aus CHX + Plasma hat für das TBL zur stärksten Reduktion geführt. Dagegen war die Menge der Bakterien nach der NaCl-Therapie größer als vor der Dekontamination. Die kombinierte Therapie aus Plasma und Spüllösung führte jeweils zu einer stärkeren Reduktion als die jeweilige alleinige Spüllösung (s. **Abb. 13**).

Tab. 1: Reduktion des TBL

	Vorher [$\times 10^4$]	Nachher [$\times 10^4$]	Differenz [$\times 10^4$]	% Reduktion
NaCl	106,80	108,80	-2,00	-1,9
NaCl + Plasma	114,60	80,50	34,10	29,8
CHX	174,20	93,30	80,90	46,4
CHX + Plasma	203,60	88,20	115,40	56,7

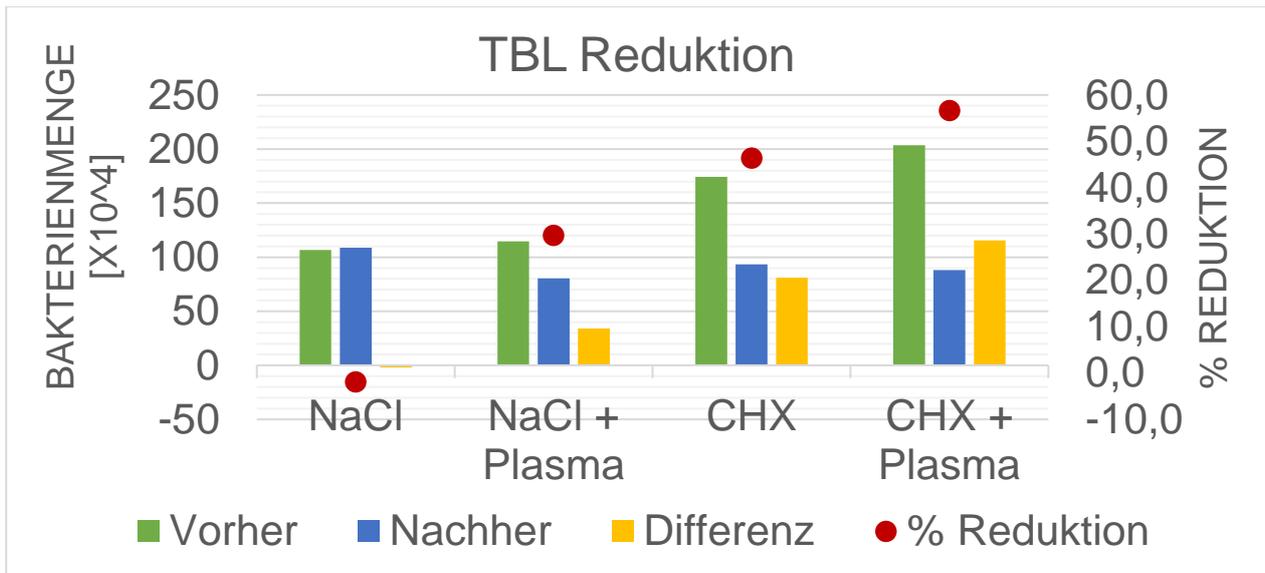


Abb. 13: Darstellung des TBL für die einzelnen Versuchsreihen. Grün: TBL vor Therapie; Blau: TBL nach Therapie; Gelb: Differenz der TBL vor – und nach Therapie; Roter Punkt: Darstellung der prozentualen Reduktion

4.1.2 Einzelne pathogene Mikroorganismen

4.1.2.1 *A. actinomycetemcomitans*

Das Pathogen wurde in keiner der Proben identifiziert und wird daher nicht weiter beschrieben.

4.1.2.2 *P. intermedia*

Bis auf zwei positive Proben für *P. intermedia* ergaben die Ergebnisse der RT-PCR keine Kontamination der Implantate.

4.1.2.3 *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. micra*, *C. rectus*,
E. corrodens, *C. albicans*

Für die prozentuale Reduktion der pathogenen Mikroorganismen s. **Tab.2**.

Mit NaCl konnten alle detektierten pathogenen Mikroorganismen reduziert werden.

Mit NaCl + Plasma hat keine Reduktion von *T.f.* stattgefunden. Darüber hinaus wurde nur eine geringe Reduktion von *F.n.* und *C.a.* gefunden. Für die restlichen sechs pathogenen Mikroorganismen wurde eine Reduktion beobachtet.

Im Vergleich NaCl gegenüber NaCl + Plasma konnte für *F.n.* und *T.f.* eine bessere Reduktion in der NaCl-Versuchsreihe beobachtet werden. Dagegen war die Reduktion der anderen pathogenen Mikroorganismen, *C.a.* ausgenommen, ähnlich mit Reduktionen > 90 %.

Mit CHX fand keine Reduktion der pathogenen Mikroorganismen *F.n.* und *C.a.* statt. Die restlichen sieben pathogenen Mikroorganismen wurden reduziert.

Mit CHX + Plasma fand keine Reduktion von *F.n.* statt. Für *P.g.* und *C.a.* ergab sich eine Reduktion > 60 %, jedoch < 90 %. Die restlichen sechs pathogenen Mikroorganismen wurden reduziert.

Im Vergleich CHX gegenüber CHX + Plasma konnte für beide Gruppen keine Reduktion von *F.n.* beobachtet werden. Für CHX ergab sich eine bessere Reduktion von *P.g.* Umgekehrt konnte *C.a.* nur in der Gruppe CHX + Plasma deutlich reduziert werden. Für die restlichen pathogenen Mikroorganismen fanden sich ähnliche Reduktionen > 90 %.

Im Vergleich NaCl + Plasma gegenüber CHX + Plasma fand nur eine Reduktion von *F.n.* in der Gruppe NaCl + Plasma statt. Umgekehrt konnte *T.f.* nur in der Gruppe CHX + Plasma reduziert werden. Während für *C.a.* in der Gruppe NaCl + Plasma nur wenig reduziert wurde, fand in der Gruppe CHX + Plasma eine Reduktion > 75 % statt. Die Ergebnisse der restlichen pathogenen Mikroorganismen fielen ähnlich aus.

Im Vergleich NaCl gegenüber CHX ergaben sich ähnliche Reduktionen für sieben pathogene Mikroorganismen von > 90 %. Einzig *F.n.* und *C.a.* konnten in der Gruppe CHX nicht reduziert werden, wobei *C.a.* in der Gruppe NaCl nicht gefunden wurde.

Tab. 2: Summe der einzelnen pathogenen Mikroorganismen sowie des TBL (jeweils n=10)

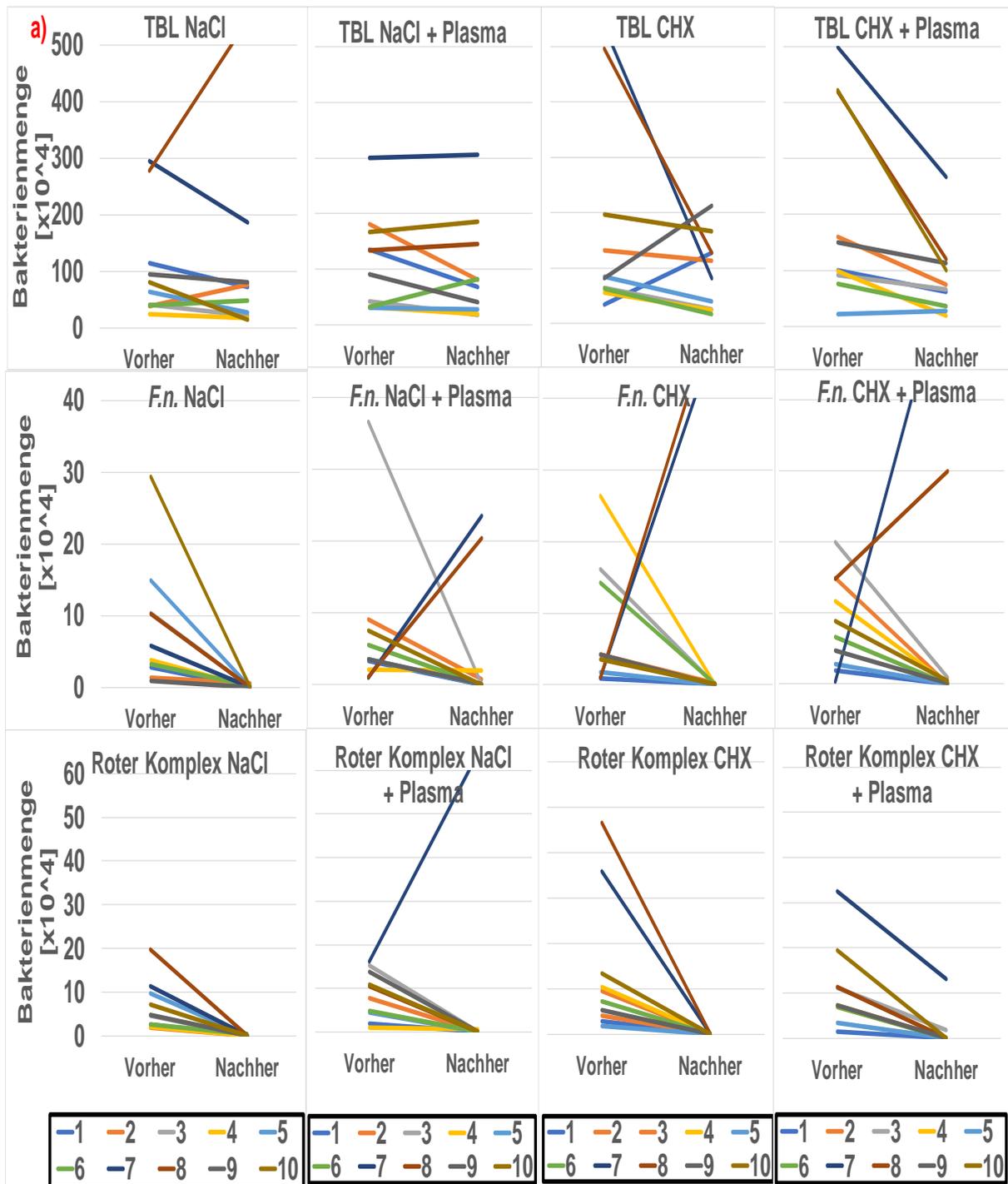
Summe der Pathogene	NaCl		NaCl + Plasma		CHX		CHX + Plasma	
	Vor-nach	Reduktion	Vor-nach	Reduktion	Vor-nach	Reduktion	Vor-nach	Reduktion
	[x10 ⁴]		[x10 ⁴]		[x10 ⁴]		[x10 ⁴]	
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. intermedia</i>	8,83	100	0	0	0	0	0	0
<i>F. nucleatum</i>	55,00	98,2	26,30	36,4	-30	-42,1	-4,05	-4,7
<i>P. gingivalis</i>	22,00	100	14,40	98,9	33,90	100	15,40	65,4
<i>T. forsythia</i>	27,40	98,6	-12,30	-23,7	65,20	99,8	51,00	91,0
<i>T. denticola</i>	16,40	98,3	19,50	98,5	37,70	99,6	25,90	93,8
<i>P. micra</i>	75,60	99,6	3,20	100	4,80	100	69,00	97,7
<i>C. rectus</i>	16,90	98,5	15,80	98,9	39,50	99,1	24,00	95,4
<i>E. corrodens</i>	21,50	97,2	13,70	90,4	35,70	98,1	32,40	98,6
<i>C. albicans</i>	0	0,0	19,60	16,4	-17,20	-4,7	364,0	77,9
<i>Actinomyceten Spp.</i>	2080	95,0	1890	89,8	2300	92	1910	98,3
TBL	-19,90	-1,9	341,0	29,8	809,00	46,4	1150	56,7

Diese Schwankungen zwischen, aber auch innerhalb der Versuchsreihen lassen sich auf zwei womöglich verunreinigte Proben der Implantate sieben und acht zurückführen. So konnte für *F.n.* insgesamt nur mit NaCl eine suffiziente Dekontamination beobachtet werden. Werden hingegen die besagten beiden Implantate nicht gewertet, ergeben sich für alle Gruppen ähnliche Werte (vgl. **Tab. 2** und **Tab. 3**).

Tab. 3: Reduktion *F. nucleatum* ohne Implantat sieben und acht

<i>F. n.</i> (n= 8, ohne Impl. #7, #8)	Vorher [x10 ⁴]	Nachher [x10 ⁴]	Differenz [x10 ⁴]	% Reduktion
NaCl	40,1	1,0	39,1	97,47%
NaCl + Plasma	71,2	2,1	69,1	97,07%
CHX	71,4	0,6	70,8	99,15%
CHX + Plasma	71,1	1,52	69,6	97,87%

Ähnliches deutet sich auch für das TBL und den roten Komplex ab (s. **Abb. 14**), wobei der Effekt bei einzelnen Spezies größer ist und sich bei Zusammenzählen verschiedener Bakterien etwas nivelliert.



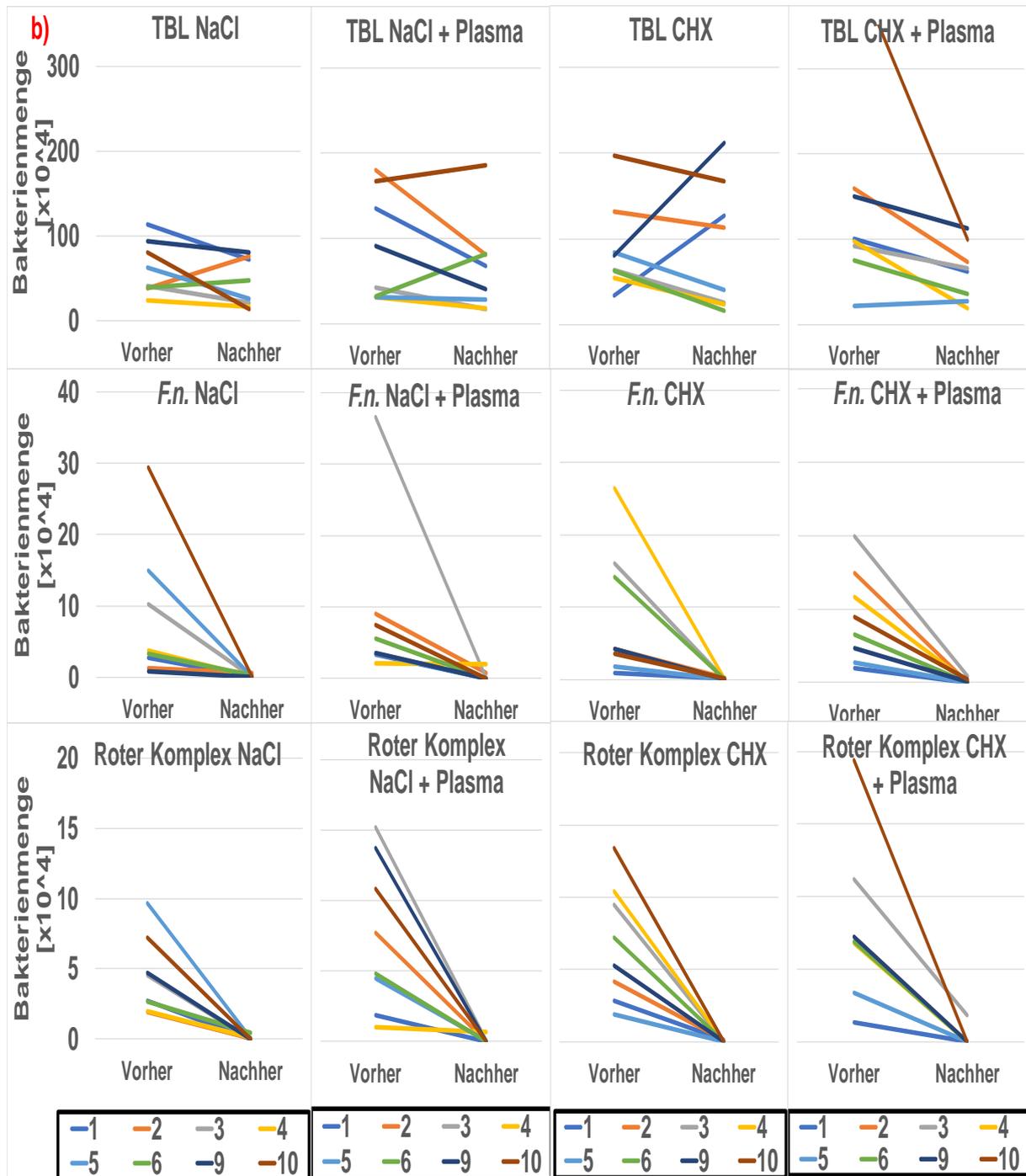


Abb. 14a) und b): Entwicklung des TBL, *F. n.* und roten Komplexes gemessen im Implantatinnenraum vor und nach Spülung bzw. Spülung mit zusätzlicher Kaltplasmatherapie. Jede Linie zeigt die Veränderung des einzelnen Implantates. Für Implantate 7 (rot) und 8 (dunkelblau) ergeben sich teilweise negative Reduktionen, s. a). Als potenziell verunreinigte Proben entfallen sie in b). N: NaCl; N + P: NaCl + Plasma; C: CHX; C + P: CHX + Plasma.

4.1.3 Actinomyceten Spp.

Die *Actinomyceten* setzen sich in diesem Versuch aus zwölf Subspezies zusammen. Insgesamt ergibt sich für alle Spülprotokolle eine starke Reduktion von 89,8 % für NaCl + Plasma bis 98,3 % für CHX + Plasma. Die Menge der verbliebenen *Actinomyceten* nach Versuchsdurchführung lässt sich als vernachlässigbar gering einstufen.

Tab. 4: Reduktion der *Actinomyceten* Spp.

	Vorher [$\times 10^4$]	Nachher [$\times 10^4$]	Differenz [$\times 10^4$]	% Reduktion
NaCl	219	11	208	95,0
NaCl + Plasma	211	21,5	190	89,8
CHX	250	20	230	92,0
CHX + Plasma	194	3,24	191	98,3

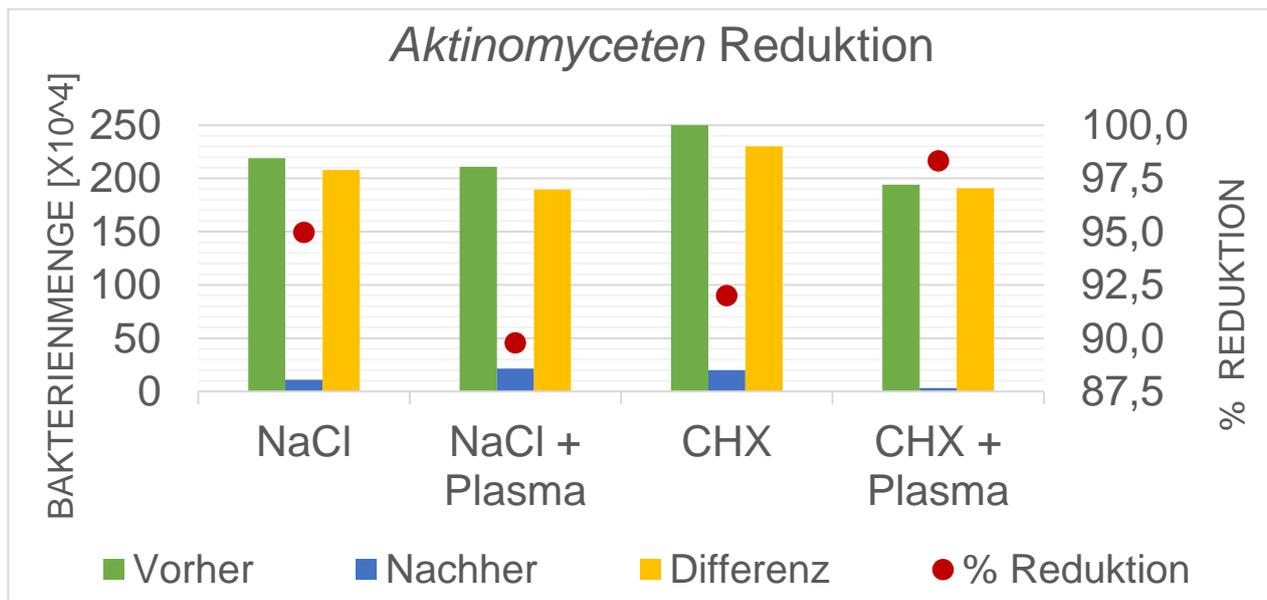


Abb. 15: Darstellung der *Actinomyceten* für die einzelnen Versuchsreihen. Grün: *Actinomyceten* vor Therapie; Blau: *Actinomyceten* nach Therapie; Gelb: Differenz der *Actinomyceten* vor – und nach Therapie; Roter Punkt: Darstellung der prozentualen Reduktion

4.2 Interindividuelle Auswertung

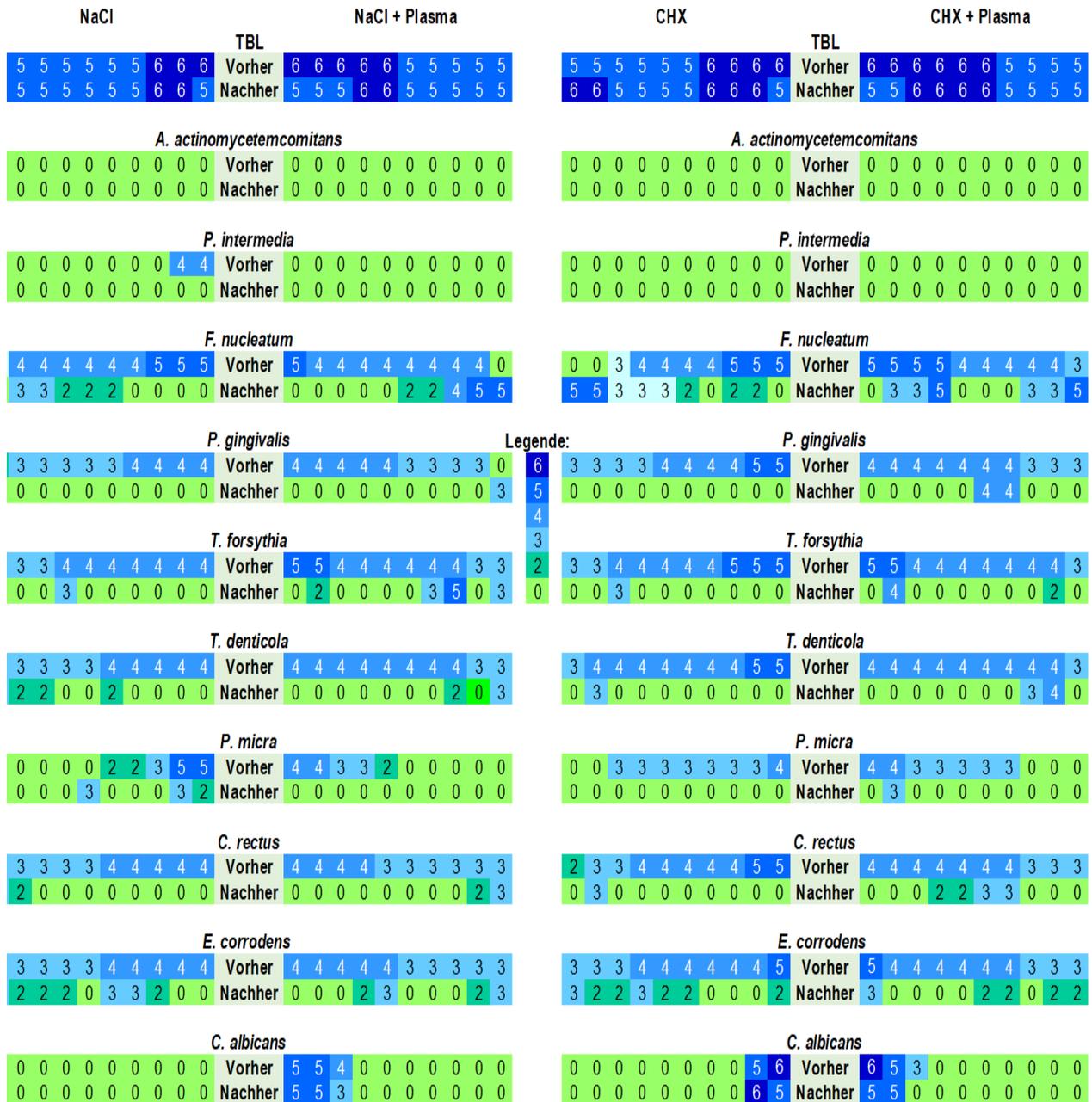


Abb. 16: Darstellung des TBL sowie einzelner Parodontalpathogene als Vergleich der Keimbelastung vor und nach chemischer und chemo-physikalischer Reinigung vom Implantatinnenraum. 3 zeigt einen Bereich $\geq 10^3$, aber $< 10^4$ Bakterien/ Plaque-Probe, 4 bezeichnet einen Bereich $\geq 10^4$, aber $< 10^5$ Bakterien/ Plaque-Probe, 5 zeigt einen Bereich $\geq 10^5$, aber $< 10^6$ Bakterien/ Plaque-Probe an, 6 zeigt einen Bereich $\geq 10^6$ Bakterien/ Plaque-Probe an. Je dunkler die Schattierung, desto höher ist die Keimbelastung. Die Werte sind paarweise angeordnet, sortiert nach dem Wert mit der höchsten Ausgangsmessung (modifiziert nach Mombelli et al., 1995).

Ausgehend von **Abb. 16** wurden die pathogenen Mikroorganismen mittels unterschiedlicher Nachweisgrenzen untersucht. Die Überlegung ist darauf zurückzuführen, dass die Pathogenität einzelner Spezies stark von der vorhandenen Menge im Biofilm abhängt – teilweise führen erst Größen ab 3×10^4 für *A. actinomycetemcomitans* und 6×10^5 für *P. gingivalis* zur Progredienz der Erkrankung (Haffajee und Socransky, 1994).

Nachweisgrenze	Anzahl positiver Implantate	NaCl + PI	NaCl + PI	CHX + PI	CHX + PI	NaCl + PI	NaCl + PI	CHX + PI	CHX + PI	NaCl + PI	NaCl + PI	CHX + PI	CHX + PI
Roter Komplex		<i>P. gingivalis</i>				<i>T. forsythia</i>				<i>T. denticola</i>			
10²	vorher	10	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	nachher	0	1	0	2	1	4	1	2	4	2	1	2
	Dekontaminationsrate	100%	89%	100%	80%	90%	60%	90%	80%	60%	80%	90%	80%
10³	vorher	9	9	10	10	10	9	10	10	10	10	10	10
	nachher	0	1	0	2	1	3	1	1	1	1	1	2
	Dekontaminationsrate	100%	89%	100%	80%	90%	67%	90%	90%	90%	90%	90%	80%
10⁴	vorher	4	5	6	7	7	7	7	9	5	8	9	9
	nachher	0	0	0	2	0	1	0	1	0	0	0	1
	Dekontaminationsrate	100%	100%	100%	71%	100%	86%	100%	89%	100%	100%	100%	89%
Orangener Komplex		<i>F. nucleatum</i>				<i>P. micra</i>				<i>C. rectus</i>			
10²	vorher	9	9	8	10	5	5	8	7	10	10	10	10
	nachher	5	5	8	6	3	0	0	1	2	2	1	4
	Dekontaminationsrate	44%	44%	0%	40%	40%	100%	100%	86%	80%	80%	90%	60%
10³	vorher	9	9	8	10	3	4	8	7	10	10	9	10
	nachher	2	3	5	6	2	0	0	1	1	1	1	2
	Dekontaminationsrate	78%	67%	38%	40%	33%	100%	100%	86%	90%	90%	89%	80%
10⁴	vorher	9	9	7	9	2	2	1	2	5	4	7	7
	nachher	0	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	Dekontaminationsrate	100%	67%	71%	78%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Abb. 17: Anteil vollständig dekontaminierter Implantate für die Parodontalpathogene des roten bzw. orangenen Komplexes je nach festgelegter Nachweisgrenze

4.3 Statistische Auswertung

4.3.1 Mann-Whitney-U-Test

Tab. 5: Nicht signifikanter Einfluss einer adjuvanten Kaltplasmatherapie zur Dekontamination eines Implantatinnenraumes mittels Mann-Whitney-U-Test

Ergebnisse	Anzahl N1	Anzahl N2	Rangsumme N1	Rangsumme N2	min(U) I	min(U) II	Nullhypothese	Bedeutung
NaCl vs. NaCl + Plasma								
<i>F. nucleatum</i>	10	10	110	100	45	45	angenommen	kein Unterschied
<i>P. gingivalis</i>	10	10	102	108	47	47	angenommen	kein Unterschied
<i>T. forsythia</i>	10	10	127	83	28	28	angenommen	kein Unterschied
<i>T. denticola</i>	10	10	89	120	34	35	angenommen	kein Unterschied
<i>C. rectus</i>	10	10	100	110	45	45	angenommen	kein Unterschied
<i>E. corrodens</i>	10	10	103	107	48	48	angenommen	kein Unterschied
CHX vs. CHX + Plasma								
<i>F. nucleatum</i>	10	10	100	110	45	45	angenommen	kein Unterschied
<i>P. gingivalis</i>	10	10	99	111	44	44	angenommen	kein Unterschied
<i>T. forsythia</i>	10	10	111	99	44	44	angenommen	kein Unterschied
<i>T. denticola</i>	10	10	106	104	49	49	angenommen	kein Unterschied
<i>C. rectus</i>	10	10	111	99	44	44	angenommen	kein Unterschied
<i>E. corrodens</i>	10	10	107	103	48	48	angenommen	kein Unterschied
TBL								
NaCl vs. NaCl+Plasma	10	10	101	109	46	46	angenommen	kein Unterschied
CHX vs. CHX Plasma	10	10	101	108	46	47	angenommen	kein Unterschied
NaCl vs. CXH	10	10	99	110	44	45	angenommen	kein Unterschied
NaC+P vs. CHX+P	10	10	98	112	43	43	angenommen	kein Unterschied
Krit. Wert	23							
α	5%							

4.3.2 Kruskal-Wallis-Test

Der Kruskal-Wallis-Test erlaubt zusätzlich zum Mann-Whitney-U-Test bei zwei Variablen mehrere Freiheitsgrade, um somit Gruppen zu untersuchen. In der vorliegenden Fallstudie verbleibt zusätzlich zum Vergleich der Einzelgruppen noch die Frage, ob die Anwendungen sich hinsichtlich der Spüllösung oder der zusätzlichen Anwendung von Plasma signifikant voneinander unterscheiden.

Tab. 6: Nicht signifikanter Einfluss einer adjuvanten Kaltplasmatherapie zur Dekontamination eines Implantatinnenraumes mittels Kruskal-Wallis-(H-)Test

Ergebnisse	N1	N2	N3	N4	R1	R2	R3	R4	H-Test	Nullhypothese	Bedeutung																																																																																				
NaCl vs. NaClPlasma vs. CHX vs. CHXPlasma																																																																																															
TBL	10	10	10	10	110	100	45	45	0,79207	angenommen	kein Unterschied																																																																																				
Spüllösung vs. Spüllösung + Plasma																																																																																															
TBL	20	20			400,5	419,5			0,06604	angenommen	kein Unterschied																																																																																				
NaCl+ NaClPlasma vs. CHX+ CHXPlasma																																																																																															
TBL	20	20			378,5	441,5			0,72604	angenommen	kein Unterschied																																																																																				
<table border="1"> <tr> <td>Ri = Rangsummen für jede Gruppe</td> <td></td> </tr> <tr> <td>N = Gesamtstichprobengröße</td> <td>N=</td> <td>40</td> <td></td> <td>40</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>ni = Größe der einzelnen Gruppen</td> <td>ni=</td> <td>10</td> <td></td> <td>20</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>k = Anzahl der Gruppen</td> <td>k=</td> <td>4</td> <td></td> <td>2</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Kritischer Wert</td> <td></td> <td>7,81</td> <td></td> <td>3,81</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>df Freiheitsgrade= k-1</td> <td>df=</td> <td>4-1=3</td> <td></td> <td>2-1=1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Konfidenzniveau</td> <td>α</td> <td>0,95</td> <td></td> <td>0,95</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>												Ri = Rangsummen für jede Gruppe												N = Gesamtstichprobengröße	N=	40		40								ni = Größe der einzelnen Gruppen	ni=	10		20								k = Anzahl der Gruppen	k=	4		2								Kritischer Wert		7,81		3,81								df Freiheitsgrade= k-1	df=	4-1=3		2-1=1								Konfidenzniveau	α	0,95		0,95							
Ri = Rangsummen für jede Gruppe																																																																																															
N = Gesamtstichprobengröße	N=	40		40																																																																																											
ni = Größe der einzelnen Gruppen	ni=	10		20																																																																																											
k = Anzahl der Gruppen	k=	4		2																																																																																											
Kritischer Wert		7,81		3,81																																																																																											
df Freiheitsgrade= k-1	df=	4-1=3		2-1=1																																																																																											
Konfidenzniveau	α	0,95		0,95																																																																																											

In dieser Studie wurde die Nullhypothese jedes Mal angenommen, weshalb es keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Versuchsgruppen hinsichtlich der bakteriellen Reduktion gibt.

5 Diskussion

5.1 Hauptergebnis

In der vorliegenden Studie wurde gezeigt, dass für die relative Reduktion der TBL eine Kombination aus physikalischer Kaltplasmatherapie und chemischer Spüllösung der reinen Spüllösung tendenziell überlegen ist. Mit CHX konnte ebenfalls, wie zu erwarten, eine Reduktion erreicht werden, mit NaCl im Gesamtergebnis dagegen nicht.

5.2 Methodendiskussion

Der in dieser Studie verwendete Versuchsaufbau soll als Grundstein einer reproduzierbaren Methode dienen, um Implantatinnenräume zu dekontaminieren. Der Forschungszweck ergibt sich aus dem zwischen Implantat und Sekundärteil entstehenden Mikrospace, der von Bakterien penetriert wird und als Reservoir zur Unterhaltung von Entzündungsprozessen dienen kann. Die Notwendigkeit der Dekontamination ergibt sich aus der derzeit fehlenden, effektiven Prävention, diesen Mikrospace dauerhaft verschlossen zu halten.

5.2.1 Implantologische Aspekte

Zur Durchführung dieser Studie erschien der Implantatinnenraum als geschlossenes System logisch. Allerdings ist das IAI (Implantat-Abutment-Interface) als biologische sowie mechanische Schwachstelle ein vielfach diskutiertes Thema. Zipprich et al. zogen in ihrer Studie die Abutments mit den je nach Hersteller unterschiedlichen Drehmomenten fest und zeigten, dass die Art des IAI entscheidenden Einfluss auf den Halt und die Bakteriendichtigkeit gegenüber Abscherbewegungen hat (Zipprich et al., 2007). Das Ziel ist also, eine Bakteriendichtigkeit zu erzeugen, um keinen Knochenverlust zu provozieren. Im Inneren des Implantats überleben *in-vitro* nämlich trotz widriger Bedingungen

ausreichend Mikroorganismen (Da Silva-Neto et al., 2012). Somit wurde versucht, eine Kontamination präventiv zu verhindern: Eine Studie mit einem CHX-Lack wies erst nach 45 bis 63 Tagen eine Kontamination des Spaltes nach, konnte, umgekehrt gesprochen, nach 63 Tagen den Mikrospace jedoch nicht mehr dichthalten (Duarte et al., 2006). Es wurde eine Zunahme der Bakterienlast am Mikrospace über einen Zeitraum von sechs Wochen sowie eine signifikante Reduktion im Implantatlumen mit der Anwendung von 0,2 %iger CHX-Spülung gegenüber der Kontrollgruppe festgestellt (Groenendijk et al., 2004). Bei Anwendung eines 1 %igen CHX-Gels ergab eine 3-monatige *in-vivo*-Studie von D'Ercole et al. einen Anstieg der Bakterienzahl in der Kontrollgruppe und gleichsam eine signifikante Reduktion des TBL durch das CHX-Gel. Darüber hinaus wird eine Ineffektivität einer mechanischen Reinigung beschrieben (D'Ercole et al., 2009). Somit kann der Mikrospace temporär verschlossen werden, wird aber erneut von Bakterien penetriert, was eine therapeutische Dekontamination unumgänglich macht.

Früh wurde erkannt, dass es initial zu einem Knochenabbau um das Implantat herum kommt. Werte im ersten Jahr bis 1,5 mm, in den Folgejahren 0-0,2 mm pro Jahr gelten als akzeptiert (Albrektsson et al., 1994; Adell et al., 1990). Enkling et al. schlussfolgerten, dass dies auf den Mikrospace zwischen Implantat und Abutment zurückzuführen sein muss. Denn ein Jahr nach Implantation war bei sub- und transgingival einheilenden Implantaten der Knochenverlust gleich groß (Enkling et al., 2011). Auch fand die Arbeitsgruppe um Jervøe-Storm über die Zeit im Innenraum vermehrt Bakterien bei gleichzeitig vermehrtem Knochenverlust, sodass sie hieraus eine Kausalität schlussfolgerten (Jervøe-Storm et al., 2015). Findet also ein Mikrospace induzierter Knochenabbau statt, sollte eine Methode entwickelt werden, die nachhaltig den Biofilm reduziert. Die Methode könnte wiederum für die Dekontamination der Implantatoberfläche verwendet werden, sodass der Stellenwert des Implantatlumens bei der P-I vernachlässigbar wäre.

5.2.2 Mikrobiologische Aspekte

Bereits 1992 postulierten Socransky und Haffajee, dass zur Entwicklung einer Parodontitis die notwendigen pathogenen Mikroorganismen vorhanden sein müssen, sie jedoch einen bestimmten Grenzwert überschreiten müssen, damit es zum Ausbruch der Erkrankung kommt (Socransky und Haffajee, 1992). Mit einer weiteren Studie legten die Autoren fest, dass das „relative Risiko für die Progression der Erkrankung“ mit erhöhten Leveln einzelner Mikroorganismen steigt. Die Grenze wurde für *A. actinomycetemcomitans* bei 3×10^4 und für *P. gingivalis* bei 6×10^5 festgelegt (Haffajee und Socransky, 1994). Die derzeitige Studienlage suggeriert ein ähnliches Keimspektrum für periimplantäre Erkrankungen (Maruyama et al., 2014; Mombelli et al., 1995; Mombelli und Décaillot, 2011; Persson und Renvert, 2014; Rosenberg et al., 1991). Bereits 2005 fanden Callan et al. die wichtigsten parodontalpathogenen Mikroorganismen bei teilbezahnten Patienten auch im IA mit Annahme einer Translokation der Bakterien von den Zähnen in den Implantatinnenraum (Callan et al., 2005). Zusätzlich zu den parodontalpathogenen Mikroorganismen werden *Staphylokokken*, *Enterokokken*, *Peptostreptokokken* und *Candida Spp.* bei der P-I beschrieben (Belibasakis, 2014). Auch Mombelli et al. fanden *Peptostreptokokken* wie *P. micra*, die für Abszesse und nekrotisierende Weichgewebsinfektionen verantwortlich sein können, sowie *Staphylokokken* (*S. aureus* und *S. epidermidis*). Sie schlussfolgerten, dass diese nicht die primäre Ursache der Erkrankung sind, diese jedoch begünstigen (Mombelli und Décaillot, 2011).

Zunächst einmal sind die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Mikroorganismen alle imstande, den hypothetischen Mikrospace zu penetrieren, da sie im Querschnitt 0,1-1,0 µm groß sind, wobei grob gilt: *T. denticola* < *A. actinomycetemcomitans* < *F. nucleatum* < *P. gingivalis* < *P. intermedia* < *T. forsythia* (Murray, 1999). Bei den von uns getesteten Stämmen handelt es sich um gramnegative Anaerobier, mit Ausnahme von *E. corrodens*, welches fakultativ anaerob ist, und *P. micra*, welches grampositiv ist (Haffajee und Socransky, 1994). Da u.a. *A. actinomycetemcomitans* und *P. intermedia* nicht oder nicht hinreichend festgestellt werden konnten, ergeben sich zwei Schlussfolgerungen: Erstens lässt sich keine Aussage treffen, ob diese beiden Keime Einfluss auf das Ergebnis haben

würden, da sie zu einer Veränderung der Biofilm-Komplexität geführt hätten; zweitens bleibt die potenzielle Dekontaminationsrate dieser beiden Bakterien durch unseren Versuch ungeklärt.

Die *Actinomyceten* Spp. sind eine Bakteriengruppe, von der 20 Arten klinisch relevant sind. In diesem Versuch wurden zwölf Subspezies untersucht. Diese unbeweglichen, nicht sporenbildenden, nicht säurefesten, pleomorphen Stäbchen gehören zur Normalflora des Verdauungstrakts, somit auch der Mundhöhle (Neumeister und Burkhardt, 2009). Sie gehören bei der Parodontitis zu den Frühkolonialisierern (Kolenbrander et al., 2002; Li et al., 2004), die teils synergistisch, teils antagonistische Effekte für die Anlagerung der oben genannten pathogenen Mikroorganismen haben. *A. odontolyticus* wird mit *V. parvula* zum blauen Komplex gezählt (Socransky et al., 1998).

C. albicans stellt den häufigsten Vertreter fungaler Pathogene dar und ist an mukosalen bis gar systemischen Infektionen beteiligt, kann diese jedoch auch selbstständig auslösen. *C. albicans* ist opportunistisch pathogen, kolonisiert 20-40 % gesunder Mundhöhlen grundsätzlich als Kommensale, kann sich jedoch in einen Biofilm mit anderen Bakterien der Mundhöhle integrieren (Tsui et al., 2016). Der Hefepilz tritt sowohl bei gesunden Patienten, jedoch häufiger noch bei Patienten mit periimplantär erkrankten Implantaten auf und wird mit *P. micra* und *T. forsythia* ko-assoziiert (Schwarz et al., 2015a).

Als Methode zur Bestimmung der absoluten Quantifizierung der Bakterien im Implantatlumen stand uns die RT-PCR zur Verfügung. Sie bietet gegenüber anderen Methoden eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse, da die Zählung nach standardisierten Mustern abläuft. Die geringe Vergleichbarkeit mit anderen Studien ergibt sich einerseits durch andere Messmethoden wie DNA-Checkerboard-Hybridisierung (do Nascimento et al., 2009) oder Multiplex-PCR (D'Ercole et al., 2009), andererseits durch unterschiedlich untersuchte Keime sowie Gesichtspunkte der Untersuchung. Es lässt sich jedoch feststellen, dass es bei den genannten Autoren zu einer Kontamination des IAI kommt. Generell gehen alle genannten Studien der Frage der Dichtigkeit des Mikrospalts bzw. dessen Verbesserung nach, während der Fokus dieser Studie die Dekontamination des IAI mit alternativen Methoden darstellt.

Unabhängig der Genauigkeit der RT-PCR lassen sich Streuwerte bedingt durch unpräzise Durchführung bei der Probenentnahme nicht ausschließen. Dennoch bleibt aufgrund der Größenunterschiede zwischen Implantatinnenraum, Aufsatz des Plasmagerätes und der Papierspitze sowie der undefinierten Dicke des artifiziellen Biofilms offen, inwiefern für die Ergebnisse reproduzierbare Messungen vorlagen. Zum einen bleibt fraglich, ob das Plasma bei einmaliger einminütiger Applikation alle Bakterien vom Boden bzw. allen Innenseiten des Implantatinnenraumes erwischt. Zum anderen suggerieren die großen Ausreißer (s. **Abb. 14**), dass, wenn auch nicht für jede einzelne Probe und Untersuchung zutreffend, die Implantate sieben und acht womöglich verunreinigt waren. Denn während bei den anderen Implantaten in der Regel ähnliche Linien beobachtet werden können (s. **Abb. 14b**), zeigen die besagten Implantate häufig ein anderes Muster.

5.2.3 Kaltplasma basierte Aspekte

Kaltplasmen bieten durch ihre völlig andere Wirkungsweise gegenüber konventionellen Therapiemethoden wie Antibiotika eine vielversprechende Lösung für zunehmend schwerer zu kontrollierende Infektionen mit atypischen Mykobakterien oder resistenten Erregern wie MRSA, aber auch Pilzen, v.a. Hefe- und Sprosspilze, Viren und Parasiten, die die Medizin vor große Herausforderungen stellen (Helmke, 2016). Auch in anderen Fachbereichen wie z.B. der Agrar- oder Lebensmittelindustrie spielen Plasmen zur Bekämpfung von Mikroorganismen eine zunehmende Rolle (Niedźwiedź et al., 2019). Da Mikroorganismen selten in Monokulturen auftreten und Biofilme durch ihre besonderen Strukturen und Anhaftungsmechanismen u.a. auf (zahn-)medizinischen Implantaten deutlich komplexer sind und sich entsprechend schwieriger entfernen lassen, ist die Beseitigung ebendieser Biofilme Gegenstand der aktuellen Plasmaforschung (Alkawareek et al., 2012; Fricke et al., 2012; Kelar Tučeková et al., 2021; Mai-Prochnow et al., 2016; Mai-Prochnow et al., 2021; Matthes et al., 2013; Modic et al., 2017; Neuber, 2016; Kang et al., 2014; Nicol et al., 2020; Rao et al., 2020). Neben Bakterien stellen auch Mykosen eine Gefahr dar, die teils schwer zu kontrollieren sind, sodass auch hierzu Studien durchgeführt worden sind: gegen einen *C.-Albicans*-Biofilm (Handorf et al., 2018; Maisch et al., 2012) und allgemein gegen Hefepilze (Ryu et al., 2013).

Bezüglich ihrer Sensitivität gilt, dass sich nicht pauschal sagen lässt, welche Bakterien empfänglicher auf eine Kaltplasmaanwendung reagieren. Es gibt einen grundsätzlichen Trend, dass gramnegative Bakterien aufgrund der fehlenden Peptidoglykanstruktur und damit geringeren Membrandicke leichter zu durchdringen sind als grampositive Bakterien. Die Zellwanddicke könnte entscheidend dafür sein, wie gut das Bakterium vom Plasma erreicht wird. Somit lässt sich grob sagen: Je dicker die schützende Oberfläche, desto schwieriger die Dekontamination, weshalb sich auch eine geringere Effektivität bei Vorliegen eines Biofilms gegenüber planktonischen Bakterien ergibt (Mai-Prochnow et al., 2016). Vereinzelt grampositive Bakterien können jedoch laut Rao et al. auch besser dekontaminiert werden als gramnegative (Rao et al., 2020). Somit ist neben der Zusammensetzung womöglich auch die Dicke des Biofilms entscheidend. Diese verbleibt für unsere Studie unbekannt und könnte limitierend gewirkt haben. Es wird eine Antiproportionalität der Kaltplasmawirkung bei zunehmender Biofilmdicke beschrieben: je dicker der Biofilm, desto schlechter die Wirkung (Fricke et al., 2012; Handorf et al., 2018; Herbst et al., 2015; Lee et al., 2019a; Mai-Prochnow et al., 2016). Darüber hinaus sinkt bei zunehmender Entfernung des Biofilms vom Plasma dessen Effekt (Kelar Tučeková et al., 2021). Herbst et al. haben in ihrer Studie die Plasmawirkung auf Biofilmen in Wurzelkanälen *in-vitro* in Kombination mit CHX untersucht. Interessanterweise waren die Ergebnisse signifikant außer bei einer Biofilmdicke von 500-800 µm, sodass man einen Abfall der Effektivität mit Zunahme der Dicke des Biofilms schlussfolgern kann (Herbst et al., 2015). Zwar bildet das Wurzelkanalsystem andere Schwierigkeiten bezüglich der Biofilmentfernung, letztlich handelt es sich aber auch dort um ein Lumen mit einem Applikationsort des Kaltplasmas, der weit entfernt von den Bakterien liegt.

Die Heterogenität der Studien macht es schwierig, einen konkreten Nutzen des Kaltplasmas gegenüber anderen Therapieformen zu definieren. Die geringe Vergleichbarkeit gilt auch für die zeitliche Applikation der Kaltplasmatherapie, die entscheidenden Einfluss auf den Überlebensgrad der Bakterien zu haben scheint. Für diese Studie musste die Entscheidung der Applikationsdauer aus einem Einzelbericht fallen: Aus einem von uns durchgeführten Vorversuch mit drei Probeimplantaten kam heraus, dass kein größerer Mehrwert einer Kaltplasmaapplikation von 120 s gegenüber 60 s besteht. Um hieraus Rückschlüsse für einen praktikablen klinischen Gebrauch zu ziehen, haben wir uns für eine Applikationsdauer von 60 s entschieden. Vergleicht man

hierzu die Literatur, erscheint die Behandlungsdauer realistisch, wenngleich das besagte Problem unterschiedlicher Versuchsprotokolle besteht: Jedes Gerät muss individuell eingestellt werden und ist nicht mit der Einstellung eines anderen Gerätes vergleichbar. So benötigten Matthes et al. mindestens 150 s, um mehr als 50 % der Bakterien zu zerstören (Matthes et al., 2013). Alkawareek et al. fanden bei ihrer Untersuchung eines *P.-aeruginosa*-Biofilms dagegen einen rapiden Abfall der Überlebensrate in den ersten 60 s mit flacher werdender Kurve durch zunehmende Applikationsdauer. Bei 40 kHz erzielten sie innerhalb von vier Minuten eine vollständige Dekontamination, wohingegen in gleicher Zeit bei einer geringen Spannung von 20 kHz nur 4 log Stufen reduziert werden konnten (Alkawareek et al., 2012). Es bleibt somit unbeantwortet, inwiefern eine längere Behandlung und eine mehrfache Behandlung einen signifikanten Effekt hätten. Zur Frequenz einer Therapie besagt die aktuelle Leitlinie, dass zur Antisepsis mehrere Applikationen täglich für eine Woche einen Mehrwert haben (Metelmann, 2022).

Entscheidend für die Behandlungsdauer ist es, die Wirkungsweise des Plasmas zu verstehen: Plasma greift in die mikrobielle Integrität ein, indem es die Bakterienmembran (zer-)stört. Laut Alkawareek et al. ist die Schädigung der Zellmembran mit daraus resultierender Veränderung der Permeabilität der zentrale Punkt zur Eradikation von Bakterien (Alkawareek et al., 2014). Je nach Membranwanddicke benötigt es einen längeren bzw. kürzeren Zeitraum, bis die Membran perforiert wird. Hieraus ergeben sich zwei methodische Schwierigkeiten: Biofilme sind komplexe Strukturen. Im Zweifelsfall lässt sich nicht sagen, ob das Plasma die tieferliegenden Bakterien des Biofilms überhaupt erreicht. Dafür müsste man isolierte Bakterienspezies z.B. in planktonischer Form untersuchen. Umgekehrt kann man dadurch dann keine Aussage darüber treffen, ob es im Biofilm gleich abläuft. Darüber hinaus kann die RT-PCR nur die Menge vorhandener Mikroorganismen messen, nicht aber differenzieren, ob diese bereits durch den Plasmaeinfluss geschädigt und dadurch zur Unterhaltung eines Biofilms inaktiviert sind. Das Plasma One kann als DBE-Gerät eine größere Fläche erreichen. Dies könnte von Vorteil bei der Dekontamination der Implantatoberfläche sein, da es hier ein deutlich größeres Areal zu erreichen gilt, jedoch für den Implantatinnenraum bedeuten, dass das Gerät unter Umständen nicht vollumfänglich über die gesamte Behandlungsdauer bis zum Boden vordringt. Dies wirkt sich dann wiederum negativ auf das Ergebnis aus, da die Papierspitze eindeutig den Boden erreicht.

5.2.4 Nutzen von Kaltplasmen in der dentalen Implantologie

Vor allem Biofilm assoziierte Entzündungsprozesse rund um Implantate stellen derzeit ein kaum mit konventionellen Therapiemethoden zu bewältigendes Problem dar. So steht eine mechanische Reinigung von Implantaten im Verdacht, dessen Mikrostruktur zu verändern (Rupf et al., 2011), wobei der entstehende Partikelabrieb einen Einfluss auf das Mikrobiom nimmt (Fretwurst et al., 2018). Kaltplasma scheint dagegen keine abrasiven Konsequenzen zu bewirken. Aus diesem Grund beschäftigen sich Studien mit der Behandlung von Bakterien auf Titanoberflächen mittels Kaltplasma teils in der direkten Applikation, teils in Kombination mit einer Spüllösung, um einen potenziellen Mehrwert gegenüber einer chemischen bzw. mechanischen Therapie zu untersuchen (Annunziata et al., 2016; Gupta et al., 2017; Ibis et al., 2016; Jeong et al., 2017; Jeong et al., 2018; Koban et al., 2010; Koban et al., 2011; Matthes et al., 2013; Kim et al., 2019; Lee et al., 2019a; Lee et al., 2019b; Rupf et al., 2011; Yang et al., 2020).

Die Plasmatherapie soll zum einen pathogene Mikroorganismen reduzieren, zum anderen die Wundheilung unterstützen. Das Wirkprinzip von Kaltplasmen besteht in a) der Reduktion der Bakteriendichte, b) einer über die Behandlung hinausgehenden Hemmung des Bakterienwachstums, ohne dabei c) menschliche Zellen zu schädigen (Nosenko et al., 2009). Gleichzeitig kommt es zu Regenerationsprozessen in Geweben, da diese Vorgänge ebenfalls durch redoxaktive Spezies gesteuert werden (Woedtke et al., 2016). Auch Knochenzellen werden durch die Kaltplasmawirkung beeinflusst: Es findet auch hier eine Veränderung in der Regulation von Genen und Proteinen statt. Es wird u.a. die mRNA-Expression einiger proinflammatorisch wirkender Zytokine (Interleukine) durch die Behandlung hochreguliert (Eggers et al., 2020). Entsprechend ließe sich dadurch auch die Regeneration der umliegenden parodontalen/ periimplantären Zellen fördern (Weltmann et al., 2010). Dazu legen Studien einen proliferationsfördernden Effekt von Kaltplasma auf Gingiva- (Eggers et al., 2022) sowie PDL-Zellen (Kleineidam et al., 2019) nahe. Das Ziel bei der P-I besteht also in der Geweberegeneration, die jedoch nur bei Bakterienreduktion stattfinden kann. Bereits im Jahr 2016 postulierten Delben et al. eine sichere Anwendung für ein rekonstruiertes orales Epithel, wobei die Therapie mittels Kaltplasma effektiv gegen einen *C.-albicans*- und *S.-aureus*-Biofilm wirkte (Delben et al.,

2016). Auch gegenüber parodontalpathogenen Mikroorganismen zeigen Studien eine Wirksamkeit. Bei Annunziata et al. wurde *A. actinomycetemcomitans* auf einer Titanoberfläche kultiviert und in einer Argonplasma-Kammer über einen Zeitraum von zwölf Minuten dekontaminiert (Annunziata et al., 2016). Bei Lee et al. wurde ein Plasmajet mit Helium-Gas zur Behandlung eines *P.-gingivalis*-Biofilms auf Titanplättchen untersucht. Zur Zerstörung des Biofilms benötigten die Autoren drei Minuten (Lee et al., 2019a). Daneben scheint Plasma die bakterielle Anheftung an Titanoberflächen durch Verbesserung der Hydrophilität zu verringern (Jeong et al., 2017; Lee et al., 2019b). Carreiro et al. arbeiteten 2019 heraus, dass die Anwendung eines Plasmajet Argongases als Plasmaquelle sicher für das gingivale Epithel bei der Behandlung eines *P.-gingivalis*-Biofilms ist. Das Kaltplasma zeigte eine deutliche Verringerung der Bakterienzahl gegenüber den Kontrollgruppen, war jedoch einer 0,2 %igen CHX-Spülung unterlegen. Die dreiminütige Kaltplasmatherapie hatte gegenüber der einminütigen keinen Vorteil für die Bakterienzahl, jedoch war die Standardabweichung bei einer Minute am größten. Es lässt sich also interpretieren, dass bei geringer Applikationsdauer die Fehlertoleranz erhöht ist, sodass eine längere Applikation zwar vielleicht keinen Mehrwert für die Dekontaminationsrate hat, wohl aber die Wahrscheinlichkeit der inkorrekten Durchführung sinkt. Die Autoren nehmen an, dass eine oberflächliche Schicht abgetöteter Bakterien sowie die starke extrazelluläre Matrix den Kaltplasmaeffekt für tieferliegende Bakterien blockieren. Ebenso legt die Studie nahe, synergistische Effekte mit Kaltplasma und CHX zu untersuchen. Ihre Darstellung lebender Zellen mittels Fluoreszenz zeigte die geringsten Bakterien bei Kaltplasma, wohingegen bei CHX deutlich mehr Bakterien vorhanden waren (Carreiro et al., 2019). Unabhängig davon und der Verwendung eines anderen Gerätes stehen die Ergebnisse im Einklang mit dieser Studie. Es kann nicht abschließend geklärt werden, inwieweit der vorhandene artifizielle Biofilm durch das Plasma inaktiviert ist oder ob es sich primär um einen Spüleffekt handelt. Zu beachten ist hierbei auch die Limitierung der Wirksamkeit des Plasmas je nach Biofilmdicke. Je dicker der Biofilm, desto geringer die Wirksamkeit des Plasmas (Herbst et al., 2015).

Trotz der Unterschiede zwischen den Studien scheint Kaltplasma als Therapieoption zu funktionieren. Dabei ergeben verschiedene Geräte mit unterschiedlichem Trägergas, die applizierte Dosis und Anwendungszeit, der Aufbau der Studie mit der Art der behandelten Mikroorganismen heterogene Ergebnisse, die nur bei individueller Einstellung für den

jeweiligen Einsatzbereich einen ausreichenden Effekt erzielen. Neben der Applikationsdauer ließe sich auch das Trägergas verändern, um den Wirkeffekt zu verstärken. Allerdings bietet Umgebungsluft den Vorteil, dass keine Gase wie Helium oder Argon in die Mundhöhle gelangen können.

In dieser Studie wurde die Wirksamkeit von kaltem atmosphärischen Plasma in Kombination mit einer Spüllösung für Implantate untersucht. Damit geht die Relevanz dieser Studie über die Frage der Dekontamination des Implantatinnenraumes hinaus. Es lässt sich sogar annehmen, dass für den Versuch erschwerte Bedingungen gegenüber einer Dekontamination der Oberfläche gelten, da der Implantatinnenraum ein in sich geschlossenes System ist. Die Mikroorganismen können dieses System nur über den vorher beschriebenen Mikrospace überschreiten bzw. herausgespült werden. Entsprechend stellt sich der Implantatinnenraum auch als trockenes Milieu dar, weshalb es mit unserer Methode zur Feststellung der Anzahl vorhandener bzw. verbliebener Bakterien immer einer Befeuchtung bedarf. Daraus ergibt sich die Frage, inwiefern synergistische oder antagonistische Effekte für Kaltplasma mit dentalen Spüllösungen vorliegen.

In der Implantologie lassen sich für die Kaltplasmaanwendung folgende Vorteile formulieren: 1) die Verbesserung der Hydrophilie des Titans, die 2) wiederum die Osseointegration verbessert, 3) eine derzeit als risikoarm geltende Dekontamination von Mikroorganismen bei 4) gleichzeitiger Reinigung der Implantate, 5) die bessere Benetzbarkeit der Implantate, ohne dabei die Oberflächenmodifikation negativ zu beeinflussen (Wang et al., 2020).

5.2.5 Spüllösungen in Kombination mit der Kaltplasmatherapie

In der vorliegenden Studie wurde die Kaltplasmawirkung in Kombination mit zwei Spüllösungen und der alleinigen Verwendung dergleichen Spüllösungen verglichen. Hierbei diente NaCl als Negativ- und CHX als Positivkontrolle. Die kombinierte Therapie aus Plasma und Spüllösung entspricht der derzeitigen Studienlage. So geht laut Schramm et al. hervor, dass das erneute Wachstum eines zuvor entfernten Biofilms durch die

Kombination von Plasma mit einer Spüllösung vorteilhaft gegenüber einer alleinigen Plasmatherapie ist, wobei auch die Reihenfolge der binären Therapie Einfluss auf das Ergebnis zu haben scheint. Die Autoren nehmen an, dass CHX bei vorheriger Kaltplasmaanwendung die Bakterien vereinfacht penetrieren kann und damit wirksamer ist (Schramm et al., 2020). Ähnliches beschreiben Gupta et al.: Die Arbeitsgruppe fand eine höhere Effektivität der Therapie in der Reihenfolge erst Plasma, dann Spüllösung als umgekehrt im Lasermikroskop (Gupta et al., 2017). Koban et al. betonen, dass es generell zu synergistischen Effekten bei der Kombination von Plasma mit chemischen Spüllösungen gegen Biofilm auf Titanplättchen kommt (Koban et al., 2013). Zuvor untersuchten die Autoren die bakterielle Reduktion eines Ein- und Mehrspezies-Biofilms auf Titanplättchen *in-vitro* mit dem Ergebnis, dass Plasma effektiver gegenüber CHX ist (Koban et al., 2011).

Ryu et al. beschreiben unterschiedliche Ergebnisse für die antimikrobielle Aktivität von Plasma je nach Lösung, in der sich die Mikroorganismen befinden. Zurückgeführt wird das auf die Veränderung der Molekülkomponenten der Lösung durch die reaktiven Spezies des Plasmas. So sinkt beispielsweise der pH-Wert von Wasser (H_2O) in Kombination mit Plasma, sodass diese saurere Lösung antimikrobiell wirksamer wird (Ryu et al., 2013).

In der vorliegenden Studie diene isotonische Kochsalzlösung (0,9 % NaCl) als Negativkontrolle. NaCl ist eine etablierte (Kolonidis et al., 2003), kostengünstige, sterile und physiologische Wundspüllösung. Grundsätzlich wäre auch H_2O als Spüllösung denkbar gewesen, welches einen rein mechanischen Reinigungseffekt haben würde, jedoch nicht als keimfrei gilt (Robert-Koch-Institut, RKI, 2005). Dies könnte zu einer Veränderung des TBL führen, weshalb wir uns für NaCl entschieden haben. Umgekehrt scheint NaCl bedingt durch die Salzstärke protektiv für die Bakterien zu wirken. Attri et al. legen einen negativen Einfluss von NaCl für die Ausbildung freier Radikale des Kaltplasmas nahe (Attri et al., 2015). Es wird eine Verringerung von OH-Radikalen bei Vorhandensein von 2 %iger NaCl-Lösung beschrieben. Kang et al. beschreiben eine Abschwächung des Plasmaeffektes durch NaCl bedingt durch die Präsenz von Ionen: Diese könnte die Plasmatoxizität der reaktiven Spezies auf die Mikroorganismen abschwächen (Kang et al., 2014).

CHX gilt in der Implantologie als etablierte Spüllösung (Lang et al., 1997). Entsprechend diente es für die vorliegende Studie aufgrund der antimikrobiellen Wirkung als Positivkontrolle.

CHX ist ein Biguanid-Derivat, welches als Mundspüllösung bei höheren Konzentrationen von 0,2 % nicht nur gegen grampositive, sondern auch gegen gramnegative Bakterien bakterizid wirkt. Relevante Wirkungsweise ist die elektrostatische Bindung von kationischen Gruppen des CHX an negativ geladene Oberflächen wie Zähne, aber auch Plaque und Mukosa (Hellwig et al., 2018). Hieraus ergibt sich die Möglichkeit der Anwendung von Chlorhexidin bei der Behandlung von Implantaten. Sowohl grampositive als auch gramnegative, sowie obligate und fakultative Anaerobier und Aerobier sind gegenüber CHX empfänglich und reagieren, je nach Stamm, unterschiedlich empfindlich (Emilson, 1977). CHX als positives Kation wirkt dabei, indem es an negativ geladene Anionen vornehmlich elektrostatisch bindet. Zum Ersten blockiert es durch die Bindung von sauren Gruppen wie Phosphat und Sulfat die Glykoproteine des Speichels, sodass diese nicht mehr an der Zahnoberfläche haften können. Dies wird für den langanhaltenden Effekt von CHX verantwortlich gemacht. Hierdurch binden weniger Bakterien an die Zahnoberfläche. Zum Zweiten interagiert CHX mit den sauren Agglutinationsfaktoren der Bakterienmembranen und verdrängt u.a. Calcium-Ionen, weshalb es über sog. Cross-linking-Mechanismen zur Ausfällung und damit der Plaque-Inhibition kommt. In höheren Konzentrationen führt dieser Mechanismus zur Zellmembran-Leakage und damit dem Zelltod der Bakterien (Rölla und Melsen, 1975). CHX (0,2 %) gilt aus toxikologischer Sicht als sicher, ohne definitiven Beweis für Resistenzen. Bei Langzeitanwendung wird das ökologische Gleichgewicht der physiologischen Mundflora jedoch negativ beeinflusst (Meyer und Enax, 2018). Bei der Anwendung wird ein dosisabhängiger, antimikrobieller Effekt durch CHX auf Implantate beschrieben (Souza et al., 2018). Eine Metaanalyse sieht jedoch keine Verbesserung durch Gebrauch von CHX als Zusatz zur mechanischen Dekontamination von Implantaten (Liu et al., 2020). CHX scheint bei potenziell oberflächenverändernder Wirkung für dentale Implantate keine Verbesserung bei einer periimplantären Mukositis zu haben (Sanchez-Perez et al., 2020).

Unabhängig der fehlenden Keimfreiheit (Robert-Koch-Institut, RKI, 2005) ist, gerade aufgrund potenzieller Nachteile adjuvanter Spüllösungen, H₂O bei der Kaltplasmatherapie

denkbar. Denn Kaltplasma wird durch die Umwelt, in der es wirken soll, verändert, ob nun positiv oder negativ. Die kurz- und langwirksamen reaktiven Spezies, die in der Gasphase des Plasmas entstehen, treten in Wechselwirkung mit dem flüssigen Medium ihrer Umgebung. Entsprechend lösen sich die Radikale dann auf oder werden erst erzeugt (Kelar Tučeková et al., 2021; Mai-Prochnow et al., 2021). Durch sog. „Plasma aktiviertes Wasser“ (PAW) (Kamgang-Youbi et al., 2008; Kamgang-Youbi et al., 2009) entsteht u.a. über die Gleichung $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}^\cdot$. H_2O_2 hat eine starke bakterizide Wirkung. Laut Yan unterscheidet sich diese Plasma aktivierte Lösung auch von einer reinen H_2O_2 -Lösung, da die Radikale, die durch das Plasma erzeugt werden, langlebiger sind (Yan et al., 2017). Eine andere Studie legt nahe, dass eine externe Applikation von H_2O_2 in gleicher Konzentration wie beim Kaltplasma nicht die gleiche bakterizide Wirkung erreicht. Gleichzeitig kommt es zu einem bakterienhemmenden Effekt auf soliden Oberflächen durch ROS/RNS des Kaltplasmas (Nicol et al., 2020). Hieraus lässt sich ableiten, dass eine Spülung mit einer bakteriziden Lösung unter Umständen keine zusätzliche Wirkung auf die Kaltplasmatherapie hat. Entsprechend könnte für weitere Studien eine Gruppe mit Wasser sowie eine Kontrollmessung der Probe einige Stunden nach Dekontamination erfolgen. Solch ein Versuchsprotokoll wäre insofern auch von Vorteil, als dass man hieraus schließen könnte, wie groß der antimikrobielle Einfluss der Spüllösung wie durch CHX ist, da Wasser selber nur zum Effekt des Herausspülens beitragen kann.

5.3 Ergebnisdiskussion

5.3.1 Bakterienreduktion

In dieser Studie wurde ein komplexer, 24 h alter artifizieller Biofilm untersucht, der aus den Sulci unterschiedlicher Parodontitispatienten gewonnen wurde und dessen bakterielle Zusammensetzung nicht bekannt war. Ein Biofilm ist eine Ansammlung von Oberflächen assoziierten mikrobiellen Zellen, die in einer extrazellulären polymeren Substratmatrix (EPS) eingebettet sind und sich durch einfaches Spülen nicht von der Oberfläche entfernen lassen (Donlan, 2002). Gegenüber planktonischen Zellen hat ein Biofilm eine 50-100-fach erhöhte minimale Hemmkonzentration, wobei der Biofilm mit zunehmendem Alter schwieriger zu entfernen ist (Marsh, 2004). Bevor es letztlich zu einem Sterben der Bakterien kommt, unterliegen die Bakterien diversen physiologischen und morphologischen Veränderungen bedingt durch die physikalische und/oder chemische Therapie. Sie gehen womöglich zunächst in einen ruhenden Zustand über, der als „viable-but-non-culturable state“ (VBNC) beschrieben wurde (Mariño, 2012). Hieraus ließe sich für diese Studie eine weitere Erklärung ableiten, weshalb die Werte innerhalb der Implantate teilweise so stark variieren. Der Fokus lag darauf, grundlegende Ergebnisse über die potenzielle Wirksamkeit des Plasmas im Implantatinnenraum zu liefern.

Wird ausschließlich das Gesamtergebnis einer Versuchsreihe betrachtet, ob nun für einzelne Bakterienspezies oder das TBL, ergibt sich als grundsätzliche Tendenz, dass es zu einer Minimierung der Bakterien kommt. Gerade für das TBL konnte in der vorliegenden Studie mit CHX + Plasma die höchste Reduktion erreicht werden. Bei Betrachtung der einzelnen Werte ergibt sich jedoch eine gewisse Streuung der Werte. Diese Verzerrung wird bedingt durch negative Ausreißer, die dann teilweise für das kumulierte Ergebnis stark ins Gewicht fallen: Für NaCl betrifft das das TBL nachher (s. **Tab. 1**); für CHX + Plasma betrifft das *F. nucleatum* und *T. forsythia* (s. **Tab. 2**). Generell ist für weitere Studien eine größere Anzahl des Patientenkollektivs denkbar, um eine gewisse Sicherheit des Vorhandenseins einzelner bakterieller Spezies sowie *C. albicans*

zu erreichen. Darüber hinaus nivellieren mehr Proben einen gewissen Anteil an Ausreißerproben.

Kumuliert man das TBL für die Negativkontrolle mit NaCl, ergibt sich eine negative Reduktion bzw. hat nach dem Spülen mehr Bakterien als vorher. Das TBL bleibt in Summe nach dem Spülen also ungefähr gleich bei 10^7 . Konkret sind hierfür Implantat sieben und acht entscheidend, da Implantat sieben eine mäßige Reduktion, Implantat acht dagegen einen deutlich erhöhten Wert nach dem Spülprotokoll hatte. Die anderen Implantate hatten darüber hinaus im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen eine geringere absolute Reduktionsmenge der Pathogene (s. **Abb. 14**).

Am deutlichsten wird die Schwankungsbreite für die Verhältnisse von *C. albicans* bei NaCl und CHX. Während für NaCl gar keine Kontamination festzustellen war, lag der Anteil bei CHX vor Spülung bei 21 % und danach sogar bei 41 %. In **Abb. 16** wird deutlich, dass für diese Werte zwei Implantate mit positiver Messung von *C. albicans* verantwortlich waren. Dies bewirkt zum einen den Nachteil der fehlenden Vergleichbarkeit zwischen den Versuchsreihen, zum anderen verzerrt es auch die Perspektive des Gesamtergebnisses. Entsprechend lässt sich durch unsere Ergebnisse nur festhalten, dass es im Implantatinnenraum - wenn auch nicht durchgehend - zu einer Kolonisierung kommen kann und nur eine geringe Dekontamination stattfindet. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von Niedźwiedz, wo *C. albicans* ebenfalls im Vergleich zu den untersuchten Bakterien resistenter war, was auf die Zellstruktur des Pilzes zurückgeführt wurde (Niedźwiedz et al., 2019). Koban et al. untersuchten dagegen die Dekontamination von *C. albicans* auf einer Titanoberfläche *in-vitro* und kamen zu dem Ergebnis, dass Kaltplasmen eine höhere Dekontamination lieferten als chemische Agenten wie CHX. Es gab jedoch starke Unterschiede zwischen den Plasmaquellen, sodass nur das Argon-DBE eine wirksame Reduktion lieferte (Koban et al., 2010). Maisch et al. gelang mittels Micro-Discharge-Plasma ebenfalls eine suffiziente Reduktion bereits ab einer Behandlungsdauer von 40 s (Maisch et al., 2012). In einer weiteren Studie gelang die Entfernung eines 10-20 µm dicken *C. albicans* Biofilms innerhalb von 300 s mittels Argon Plasmajet, wenn zusätzlich Sauerstoff hinzugefügt wurde (Fricke et al., 2012). Es lässt sich somit zusammenfassen, dass *C. albicans* durch Kaltplasmen dekontaminiert werden kann, dies jedoch stark von der Plasmaquelle und dem Versuchsaufbau abhängt. Das

Ziel der vorliegenden Pilotstudie war es weder, bewusst Reduktionen von *C. albicans* zu untersuchen, noch die Sensitivität mittels eines DBE Plasmas zu beurteilen. Dies sollte daher Gegenstand zukünftiger Forschung sein.

Mehr Aussagekraft hat dagegen die Dekontamination der parodontalpathogenen Mikroorganismen. Das liegt u.a. an der durchgängigen Kontamination der einzelnen Implantate mit den meisten zu untersuchenden Mikroorganismen. Zur besseren Einordnung der Ergebnisse vgl. **Abb. 17**: Hieraus wird ersichtlich, wie viele Implantate letztlich dekontaminiert sind und damit keine Nische periimplantärer Entzündungen darstellen. Denn die rangskalierten Datensätze der statistischen Analyse hinterfragen die statistische Signifikanz, letztlich ist es jedoch fast relevanter, ob das Implantatlumen einen Entzündungsprozess auslösen bzw. unterhalten kann. Aufgrund der Schwankungen in den Mengen einzelner Bakterien für die einzelnen Implantate sei auf die klinisch relevanten Grenzen einzelner Mikroorganismen für die Progression einer Parodontitis durch Haffajee und Socransky hingewiesen: Bereits 1994 postulierten sie, dass bei gleichzeitigem Bestehen von entsprechenden Bakterien wie *P. gingivalis* und *A. actinomycetemcomitans* $> 10 \times 10^5$ das relative Risiko für die Progression der Parodontitis um den Faktor 6,7 erhöht ist, wohingegen bei einzeitigem Vorliegen und gleicher Bakterienzahl dieses für *P. gingivalis* bei 2,2 bzw. *A. actinomycetemcomitans* bei 3,2 liegt (Haffajee und Socransky, 1994). Daneben stellten Kolenbrander et al. die Rolle von *F. nucleatum* als Brückenkeim heraus, der sowohl mit frühen als auch mit späten Kolonisierern koaggregiert. Aus anderen Versuchen schlussfolgerten sie, dass *F. nucleatum* pathogener ist, wenn es mit *P. gingivalis* vorliegt. Umgekehrt kann *F. nucleatum* bei einer entsprechenden bakteriellen Zusammensetzung auch zur Homöostase und verbesserten Immunantwort beitragen (Kolenbrander et al., 2002). Dort wird auch die Schwierigkeit einer antimikrobiellen Aktivität für tiefere Schichten des Biofilms beschrieben, sodass dies eine Erklärung für die verhältnismäßig inkonstante Dekontamination von *F. nucleatum* in unserem Versuch sein kann. Wahrscheinlicher ist es jedoch, eine Art Verunreinigung der Implantate sieben und acht anzunehmen, da auch für *F.n.* die Reduktionen weit über 95 % liegen, wenn die besagten Implantate nicht berücksichtigt werden (s. **Tab. 3**). Auch ein versehentlicher Datentausch der vorher und nachher gemessenen Werte kann seitens des Labors nicht ausgeschlossen werden. Somit ist es für weitere Studien fast schon notwendig, mehr Implantate einzubeziehen, da

eine Dekontamination grundsätzlich gut funktioniert, die geringe Fallzahl eine abschließende Beurteilung der Wirkung des Kaltplasmas jedoch erschwert.

P. gingivalis wird häufig als Schlüsselbakterium bezeichnet. Das Bakterium formt im PSD-Modell einen zunehmend dysbiotischen Biofilm, der zu einer periimplantären Erkrankung führen kann (Hajishengallis und Lamont, 2012). Bereits geringe Mengen (<0,01 % des TBL) bewirken eine signifikante Veränderung in der Organisation der Kommensalen eines Biofilms (Hajishengallis et al., 2011). Das Bakterium selbst hat Strategien entwickelt, bei denen es zu einer Abkehr der angeborenen Immunabwehr kommt, wodurch sich ein pathogener Biofilm entwickeln kann, der zur Destruktion parodontaler bzw. periimplantärer Strukturen führt. Anhand der Ergebnisse von Kolenbrander aus 2002 kann jedoch eine signifikante Reduktion bereits ausreichend dafür sein, um Entzündungsprozesse zu unterbinden (Kolenbrander et al., 2002). Da bei allen Versuchsreihen eine starke Reduktion von *P. gingivalis* stattgefunden hat, lässt sich interpretieren, dass kein Entzündungsprozess vom Implantatinnenraum hervorgehen kann. Konkret bedeutet das: Bei einer Nachweisgrenze von 10^2 waren in der Gruppe NaCl 10 von 10 (100 %), NaCl+Plasma 8 von 9 (89 %), CHX 10 von 10 (100 %) und CHX+Plasma 8 von 10 (80 %) frei von *P. gingivalis* (s. **Abb. 17**). Auch für diesen Mikroorganismus gibt es in der Gruppe NaCl+Plasma ein Implantat, das ursprünglich, also vorher, keine Aktivität zeigt, danach jedoch einen Wert um 10^3 . In der Gruppe CHX+Plasma waren gar zwei Implantate mit einem Ausgangs- sowie Endwert um 10^4 (s. **Abb. 16**). Ob das nun an der zusätzlichen Anwendung von Plasma, der Messmethode oder einer Kombination mehrerer Faktoren lag, lässt sich nun im Nachhinein nicht mehr feststellen.

Bei näherer Betrachtung sind die Ergebnisse von *T. forsythia* ebenfalls interessant. Bei den Kontrollgruppen NaCl und CHX ist je ein Implantat, bei dem keine vollständige Eradikation stattgefunden hat, während es bei CHX+Plasma zwei sind. In der Gruppe NaCl+Plasma sind es sogar vier Implantate, wobei eins davon bei ursprünglich 10^4 auf 10^5 eine „negative Reduktion“ erlebt hat (s. **Abb. 16, 17**). In den Gesamtergebnissen spiegelt sich das derartig wider, dass für die Gruppe NaCl+Plasma insgesamt eine Verschlechterung von vorher zu nachher um -23 % stattgefunden hat. Somit ist zum einen die Aussagekraft des Gesamtergebnisses kritisch zu hinterfragen. Zum anderen hat auch

hier bei den meisten Implantaten eine vollständige Entfernung von *T. forsythia* stattgefunden, jedoch ist bei Implantat sieben für beide Kaltplasmagruppen keine Reduktion bzw. sogar eine Verschlechterung aufgetreten (s. **Tab. 2** und **Abb. 14**).

Die *Actinomyceten* Spp. sind frühe Kolonisatoren bei gingivalen Entzündungsprozessen. Ihnen kommt die Rolle als Brückenkeim zu gramnegativen Anaerobiern zu. Somit kann eine suffiziente Reduktion der *Actinomyceten* nachhaltig die Möglichkeit der Rekolonisierung reduzieren. In den Versuchsreihen konnte eine Reduktion zwischen 90 und fast 100 % erreicht werden.

Es lässt sich somit festhalten, dass Einzelspezies bezogen auf Ausreißer deutlich empfindlicher reagieren, da sie allein von der Bakterienmenge deutlich geringer ausfallen als die *Actinomyceten*, die sich aus zwölf Subspezies zusammenfassen. Die womöglich verunreinigten Proben fallen deshalb für die einzelnen Bakterien extrem ins Gewicht. Diese Betrachtung muss bezogen auf das TBL etwas angepasst werden. Denn die untersuchten Spezies sowie *Actinomyceten* und *C. albicans* machen nur einen verhältnismäßig geringen Anteil des TBL aus, sodass hieraus kaum Schlüsse gezogen werden können, in welcher Form die Implantate verunreinigt waren. Schließlich verändern auch beim TBL einzelne Proben das Ergebnis völlig. Während für NaCl insgesamt eine negative Reduktion des TBL vorher zu nachher stattgefunden hat, liegt die Reduktion, wenn das Implantat acht außer Acht gelassen wird, bei 27,9 %. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der Hypothese, dass, bezogen auf das TBL, CHX effektiver als NaCl ist und die zusätzliche Kaltplasma-Applikation vorteilhafter ist als die alleinige Spüllösung.

Als Hypothese kann, den bisherigen Daten folgend, formuliert werden: Ein bakteriell induzierter Entzündungsprozess für den Implantathals aus dem Implantatinneren ist bei dem vorliegenden Ergebnis zumindest erschwert. Die notwendige Bedingung hierfür ist der Verschluss des Mikrospalts durch eine entsprechende Implantatgeometrie bzw. Abdichtung des Übergangs Implantat zu Abutment. Dies lässt sich auf die Veränderung des Ökosystems bedingt durch die physikalisch-chemische Dekontamination des Implantatinnenraums zurückführen. Demgegenüber stehen Überlegungen, ob und wann es für Implantate zu einer (Re-)Kolonisierung kommt. Bereits 2005 stellten Callan et al. Bakterien der Mundhöhle im IAI fest (Callan et al., 2005). Laut Enkling et al. werden Implantate vor allem beim Abschrauben kontaminiert, sodass mehrfaches Eröffnen den

kritischen Moment für die bakterielle Penetration darzustellen scheint (Enkling et al., 2011). Je nach IAI scheint der Pumpeffekt auch für eine Kontamination des Mikropaltes zu sorgen (Zipprich et al., 2007). Hierbei ist jedoch die fragliche Rolle des Mikropaltes zur Initiierung und Progression einer P-I zu beachten. Dennoch hat unsere Studie ihren Stellenwert für die generelle Potenz einer Kaltplasma unterstützten Dekontamination von Implantaten. Denn bei der Herausforderung, die P-I zukünftig Kaltplasma basiert zu therapieren, liegen ähnliche Bedingungen und daraus resultierende Schwierigkeiten vor: eine raue, gewundene Titanoberfläche, die vor allem in der Tiefe suffizient dekontaminiert werden muss.

5.3.2 (Aus-)Wirkung des Kaltplasmas

Bei dem verwendeten Gerät Plasma one (plasma MEDICAL SYSTEMS GmbH, Nassau, Deutschland) handelt es sich um ein Volumen-DBE. Hieraus resultieren gewisse gerätespezifische Besonderheiten, die es bei der Handhabung zu beachten gilt. Einerseits funktioniert es nur mit einer naheliegenden Gegenelektrode, sodass es bei unpräziser Ausrichtung des Versuchsdurchführenden auf das Implantat zu einem Abbruch des Impulses kommt. Andererseits erlaubt die Dicke des Biofilms und die Distanz von Plasmagerät zum Innenraumboden keine Klärung der Frage nach dem Mehrwert des Plasmas gegenüber einer reinen Spüllösung. Technisch ergibt sich die Limitation durch den Geräteaufbau: Es wird ein starkes elektrisches Feld benötigt, um ein Kaltplasma mit ausreichend Druck zu erzeugen. Das bedeutet zum einen, dass zwischen der Plasmaentladung und dem behandelten Medium nur wenige Milli- bis Zentimeter liegen dürfen, um einen direkten Effekt zu erzielen, wodurch zum anderen die Dimensionen des Gerätes bzw. behandelten Objektes limitiert werden (Lu et al., 2012). Zu beachten ist auch, dass die Kaltplasmaeffekte womöglich indirekt entstehen und sich bakterizide Mediatoren erst über die Zeit formieren (Nicol et al., 2020).

Aus der statistischen Analyse ergeben sich relativ ähnliche Ergebnisse zwischen den einzelnen Gruppen, was Raum für zwei Interpretationen zulässt: 1. Es gibt keinen

Mehrwehrt in der Anwendung durch Kaltplasma und/oder 2. methodische Defizite beeinflussen die Aussagekraft des Ergebnisses zu sehr, da sich aus den zwei einzelnen Daten vor- zu nachher nur eine generelle Aussage über die prozentuale Dekontamination treffen lässt, ohne den Einfluss des Kaltplasmas einzuordnen. Ebenfalls hinderlich für eine zielgerichtete Interpretation sind die „negativen Reduktionen“ für die Pathogene, was auf Messfehler bzw. Verunreinigung hindeutet. Grundsätzlich zeigen alle Versuchsgruppen auch Reduktionen von bis zu 100 % für einige Implantate bei den entsprechenden Pathogenen. Dies erlaubt den Rückschluss, dass eine suffiziente Dekontamination möglich ist. Für weitere Studien ist deshalb zur verbesserten Einschätzung der Wirksamkeit des Plasmas bzw. des unterstützenden Effekts zur Spüllösung ein Studiendesign mit verbundenen Stichproben sinnvoll: Es sollte eine zusätzliche Probenentnahme nach Plasmaverwendung und vor der Spüllösung stattfinden. Dadurch ließe sich besser einschätzen, wie effektiv Plasma den Boden des Innenraums dekontaminiert, nachdem die Bakterien sich in flüssiger Phase befinden. Wenngleich ein synergistischer Effekt mit CHX beschrieben worden ist (Schramm et al., 2020), ist laut Nicols Ergebnissen auch denkbar, dass direktes Spülen mit Lösung den Effekt des Plasmas reduziert. Denn die Menge an ROS ist direkt nach der Anwendung am höchsten, jedoch ist die bakterielle Reduktion 1 h nach Exposition signifikant höher, noch höher nach 4 h, während es bei der Gruppe, die nicht mit Plasma behandelt worden ist, zu einer Rekolonisierung der Bakterien kam (Nicol et al., 2020). Weitere Studien legen ebenfalls einen zeitlichen verzögerten Effekt bakterieller Inaktivierung weit nach der Plasmatherapie nahe (Neuber, 2016; Stoffels et al., 2008). Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, eine gewisse Zeit nach der Anwendung erneut zu messen, ob ein zusätzlicher Effekt aufgetreten ist. Dieses erneute Messen wäre für den klinischen Gebrauch nicht praktikabel, könnte jedoch wichtige Erkenntnisse über die Wirkungsweise des Kaltplasmas liefern. Ein Studiendesign mit verbundenen Stichproben sowie einer zusätzlichen, zeitlich verzögerten Probenentnahme waren aufgrund der erstmaligen Untersuchung in diesem speziellen Feld nicht möglich, sollten jedoch für weitere Studien berücksichtigt werden.

Da es sich bei unserer Studie um eine reine *in-vitro*-Studie ohne humane Zellen handelt, lässt sich auch keine Schlussfolgerung darüber anstellen, welchen Einfluss die Immunantwort der Körperzellen auf das Ergebnis haben würde. Letztlich wirkt sich das

Kaltplasma positiv wie negativ auf alle im Therapiebereich vorhandenen Zellen aus. Entscheidend hierfür sind oxidative Prozesse durch vor allem ROS/RNS, die je nach Dosis und Applikationsdauer apoptotisch, aber auch nekrotisch je nach Zellverband wirken können (Stoffels et al., 2008). Eine erhöhte Expositionsdauer wird mit erhöhtem oxidativen Stress verbunden, der zu mehr DNA-Strangbrüchen führt. In Abhängigkeit des verwendeten Gases und der Applikationsdauer kann sich Kaltplasma bei richtiger Geräteeinstellung positiv auf die Wundheilung auswirken (Eggers et al., 2022; Haertel et al., 2013). Somit ist zu vermuten, dass sich bei einer klinischen Studie neben antimikrobiell wirksamen Effekten andere proliferative Prozesse günstig auf die Prognose auswirken könnten. Neben dieser potenziell positiven Veränderung des Weichgewebes gibt es ebenso Daten, dass auch Osteoblasten aktiviert werden (Eggers et al., 2020), die gerade bei Implantaten relevant für die Prognose sind. Entscheidend ist jedoch für jedes Gerät und jede Zellgruppe eine individuelle Applikationsdauer sowie Geräteeinstellung, die in entsprechenden Grundlagenstudien wie dieser erarbeitet werden muss. Anhand unserer Ergebnisse lässt sich vermuten, dass eine längere Applikationsdauer zu einer erhöhten Dekontaminationsrate führt, da Faktoren wie die Biofilmdicke und -komplexität, Erreichbarkeit des Implantatbodens sowie die Gerätesensitivität im Zweifelsfall unterschätzt werden. Darüber hinaus nimmt die flüssige Umgebung Einfluss auf den Wirkungsgrad des Plasmas. Hierbei ist eine wechselseitige Beeinflussung entscheidend: Plasma verändert vitale Eigenschaften des Mediums, in dem es sich befindet bzw. mit dem es interagiert. Das Medium wiederum verändert die toxische Natur des Plasmas. Die Flüssigkeit, mit der das Plasma interagiert, wird saurer, wobei NaCl als Salz diesem Effekt protektiv gegenüber wirkt und weniger OH-Radikale entstehen lässt (Ryu et al., 2013). Dagegen könnte ein wässriges Medium wie der Speichel, der unter klinischen Umständen vorliegt, zu höheren Konzentrationen von H_2O_2 , Superoxiden und anderen Sauerstoffradikalen führen. Diese Spezies können in Zellen diffundieren und Schaden durch Peroxidation oder Oxidation über die Fenton-Reaktion verursachen (Neuber, 2016). Deshalb wird bei der Behandlung chronischer Wunden mittels Kaltplasma generell ein feuchtes Milieu empfohlen (Metelmann, 2022). Allerdings könnte konkret für das von uns verwendete DBE Plasmagerät (Plasma one) aufgrund der geringen Leistung von maximal 5 W die hochstehende Flüssigkeitsmenge der Spüllösung im Implantatlumen ein entscheidender Nachteil sein, da das Kaltplasma diese nicht durchdringen kann. Hierzu

verglichen Hafner et al. Kaltplasma mit Polihexanid und aPDT mit dem Ergebnis, dass die Kaltplasmatherapie nur bis zu einer Wasserfilmdicke von 0,3 mm gegen einen grampositiven und einen gramnegativen Bakterienstamm effektiv war, wohingegen Polihexanid und aPDT bis 1,8 mm Schichtstärke bakterizid wirkten. Sie führten die verringerte Effektivität auf die geringe Leistung des Gerätes zurück (Hafner et al., 2018). Diese Schlussfolgerung steht im Einklang mit Modic et al., laut deren Ergebnissen bei Entladungen mit niedriger Leistung bis 8 W hauptsächlich ROS-Radikale entstehen, wohingegen im höheren Leistungsbereich von 34,5 W RNS-Radikale entstehen. Bei ROS dominierenden Prozessen scheint der antibakterielle Effekt geringer auszufallen, sodass zur Dekontamination von Biofilmen eine längere Applikationsdauer benötigt wird. Dabei wurden gramnegative Bakterien deutlich schneller entfernt als grampositive oder gemischte Biofilme (Modic et al., 2017). Da wir es in unserer Studie mit einem gemischten Biofilm am entfernten Implantatboden zu tun hatten, der zuvor mittels Spüllösung befeuchtet war, lässt sich annehmen, dass bei einer von uns verwendeten Applikationsdauer von 60 s kein ausreichender Effekt des Kaltplasmas auf den Biofilm entsteht. Bedingt durch den Geräteaufbau ließe sich in zukünftigen Studien die Behandlungsdauer verlängern. Allerdings birgt dies im klinischen Gebrauch die Gefahr eines möglicherweise schädlichen Effekts für die umliegenden Zellen des Hart- und Weichgewebes (Eggers et al., 2022).

5.4 Stärken, Schwächen, Grenzen der Untersuchung

Mit der vorliegenden *in-vitro*-Studie konnte erstmalig untersucht werden, inwiefern eine Kaltplasmaapplikation zur Verringerung der Bakterienlast in Implantatinnenräumen führt. Trotz der geringen Gesamtprobenzahl (N=40) konnten vier einzelne Versuchsgruppen erstellt werden, bei denen zwei unterschiedliche Spülungen zum Einsatz kamen. Dadurch ließ sich u.a. der Einfluss einer Spüllösung bzw. der des Kaltplasmas in Kombination mit einer Spüllösung untersuchen. Gleichsam konnte gezeigt werden, dass, wenn auch nicht signifikant, die Anwendung von Plasma in den meisten Fällen zu einer größeren Reduktion geführt hat. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich durch Modifikation des Versuchsprotokolls zukünftig auf vielversprechende Studien hoffen.

Umgekehrt sind die geringe Fallzahl, die fehlende Signifikanz und die teils nach Versuchsdurchführung höheren Bakterienzahlen als vor der Therapie als Schwäche dieser Studie zu benennen. Deswegen kann die Studie zunächst als Pilotstudie betrachtet werden. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass Kaltplasma basierend auf Sauerstoff für die Dekontamination von Implantatinnenräumen weniger geeignet ist.

Als Pilotstudie bestehen die Grenzen dieser Untersuchung in der Ableitung für ein generelles Versuchsprotokoll zur Dekontamination von Implantaten. Hierzu bedarf es anhand der generierten Daten mehrerer Studien. Das *in-vitro*-Studiendesign erlaubt zudem nur eine begrenzte Übertragbarkeit für den klinischen Gebrauch.

6 Schlussfolgerung

Anhand der ermittelten Ergebnisse lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen:

Trotz moderner Implantatsysteme und verschiedener Methoden zur Abdichtung des Übergangs Implantat zu Abutment ist eine Kontamination mit Mikroorganismen nicht vermeidbar. Aufgrund der vornehmlich bakteriellen Besiedlung des Implantatinneraumes, sollte der entstehende Biofilm entfernt werden. Diese Überlegungen sind dem grundsätzlichen Problem von Entzündungsprozessen des periimplantären Formenkreises untergeordnet. Aus den generierten Daten sollen Rückschlüsse gezogen werden, ob neben derzeitigen Methoden weitere Therapieansätze bestehen, Implantate nach vorangegangener bakterieller Besiedlung wieder zu dekontaminieren. Derzeitig wird das Implantatlumen aufgrund der schwierigen Zugänglichkeit vor allem mit chemischen Spüllösungen therapiert, die äußeren Oberflächen dagegen mechanisch mit adjuvanter Spüllösung. Für den Innenraum bieten Spüllösungen bei der Dekontamination einen eingeschränkten Nutzen, gerade wenn ein Biofilm über einen längeren Zeitraum besteht. Die mechanische Therapie birgt als Nachteil, die Titanoberfläche abrasiv zu verändern. Für eine physikalische Therapie mittels Kaltplasma kann einerseits davon ausgegangen werden, dass die Implantatoberfläche nicht verändert wird und andererseits eine Interaktion des Biofilms mit den reaktiven Spezies des Kaltplasmas stattfindet. Von Letzterem wiederum erhofft man sich eine länger anhaltende Minimierung des Entzündungsprozesses und dadurch einen Zustand periimplantärer Gesundheit.

Die Studie bildet nur einen sehr kleinen Raum der Möglichkeiten eines Plasmagerätes ab. Aus Untersuchungen zur Wundheilung sowohl am Weich- als auch Hartgewebe (Eggers et al., 2020; Eggers et al., 2022) sowie PDL-Zellen (Kleineidam et al., 2019) ließ sich der Transfer zur Implantologie ziehen. Unter den genannten Aspekten erscheint eine erstmalige Untersuchung zur Kaltplasmaaktivität im Implantatinnenraum als vielversprechende Methode. Die Ergebnisse lassen auf eine gute Wirksamkeit des Plasma-One-Gerätes schließen, wenngleich Folgendes zu berücksichtigen ist: Es bleibt unklar, wie groß der Effekt der reinen Spülung gegenüber des Kaltplasmas ist, wobei negative Wechselwirkungen zwischen den beiden nicht ausgeschlossen werden können. Zuletzt wird aufgrund des abgekapselten Systems des Implantatinnenraums nur

gemutmaßt, inwiefern die Kaltplasmadosis bei der angewendeten Applikationsdauer ausreichend war, um den Boden des Biofilms sicher zu erreichen. Innerhalb der Limitierung dieser Studie lässt sich anhand der Ergebnisse für das TBL, einzelnen pathogenen Mikroorganismen sowie *Actinomyceten* darauf schließen, dass die Methode bei korrekter Anwendung einen Mehrwert gegenüber einer reinen Spüllösung verspricht.

Bei einer derzeit geringen Fallzahl der Gruppen (n=10), die in dieser Studie untersucht worden sind, werden für eine klarere Aussage veränderte Spülprotokolle sowie Anwendungszeiten des Kaltplasmagerätes benötigt. Die Unabhängigkeit der Datensätze innerhalb der Kaltplasmagruppen bei gleichzeitig vorkommenden negativen Werten limitiert die Aussagekraft der Ergebnisse. Die Schlussfolgerung lautet daher, dass man 1. abhängige Datensätze, um den Einzeleffekt des Plasmagerätes erörtern zu können und, 2. eine größere Fallzahl benötigt, auch um die Sensitivität der angewandten Messmethode mit Papierspitzen zu validieren.

Für eine *in-vivo*-Untersuchung müssen folgende Fragen beantwortet werden: 1. welche Therapiedauer notwendig ist, 2. welches Spülmedium optimal für die Therapie geeignet ist und 3. ob über den Zeitraum der Therapie hinweg ein Effekt besteht. Umgekehrt lässt sich das Wachstumsverhalten von Bakterien am besten klinisch überprüfen, sodass hier noch mehr Forschungsbedarf besteht.

7 Zusammenfassung

Ziel der Studie war es, eine optimale Methode zur Dekontamination bakteriell besiedelter Implantatinnenräume mit und ohne Anwendung von kaltem atmosphärischen Plasma zu ermitteln. Es handelt sich bei den Innenräumen dentaler Implantate um schwierig zu reinigende Bereiche, die eine ideale Nische für die Besiedlung von Bakterien darstellen. Dies konnte in einer früheren Studie der Arbeitsgruppe bereits gezeigt werden (Jervøe-Storm et al., 2021). Hieraus können sich wiederum Erkrankungen des periimplantären Formenkreises entwickeln, die die Verankerung des Implantates im Kieferknochen negativ beeinflussen.

In diesem Versuch wurden zwei bereits erprobte Spüllösungen benutzt, die klinisch standardmäßig zur Reinigung der Implantatinnenräume angewandt werden. Hinzu kam der Einsatz des Plasma One (plasma MEDICAL SYSTEMS GmbH, Nassau, Deutschland). Der Versuch sollte dabei die Frage hinsichtlich des Effekts der Anwendung von kaltem atmosphärischen Plasma gegenüber der reinen Spüllösung beantworten. Hierfür liegen derzeit keine evidenzbasierten Daten vor.

Folgende Gruppen wurden untersucht:

1. NaCl 0,9 % (Negativkontrolle) (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland)
2. CHX 0,2 % (Positivkontrolle) (Kreussler Pharma, Wiesbaden, Deutschland)
3. Kaltplasma 60 s kombiniert mit einer Spülung: mit NaCl 0,9 % (Testgruppe 1)
4. Kaltplasma 60 s kombiniert mit einer Spülung: mit CHX 0,2 % (Testgruppe 2)

Die beiden Spüllösungen wurden aus der Erfahrung vorheriger Versuche und Pilotstudien gewählt. Für jede Gruppe wurden jeweils 10 Implantatinnenräume benetzt. Die Bakterien wurden aus anonym gewonnenen gemischten subgingivalen Plaqueproben generiert und mit 500 µl fetalem Kälberserum (Thermo Fisher Scientific, Waitham, USA) vermischt. Die Implantate wurden 24 h nach ihrer Benetzung getrocknet. Danach wurden sie mit 16 µl physiologischer Kochsalzlösung (isotonische (0,9 %ige) NaCl-Lösung; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) befeuchtet. Hiervon wurde die erste Probe entnommen, um die Gesamtbakterienzahl (TBL) am Baseline ermitteln zu können. Die Implantate wurden

danach, dem Versuchsaufbau entsprechend, bearbeitet. In den beiden Kontrollgruppen wurde die zweite Probe nach der Spülung genommen. Dagegen erfolgte in den beiden Kaltplasma-Testgruppen eine Behandlung des Innenraums zunächst für 60 s mit dem Plasma One. Das Implantat wurde danach, den Kontrollgruppen entsprechend, gespült. Auch an diesem Punkt erfolgte eine Probeentnahme. In allen Fällen erfolgte diese mit sterilen Papierspitzen ISO 60 (VDW, München, Deutschland), die einzeln in sterile Eppendorf-Gefäße (1,5 ml) verpackt und versandt wurden. Die Probenanalyse des TBL sowie neun bekannten parodontalpathogenen Mikroorganismen, *C. albicans* und 12 *Actinomyces*-Subspezies erfolgte mittels Real-Time-PCR (Carpegen 0 PerioDiagnostik, Carpegen, Münster, Deutschland) in einem spezialisierten Labor (Oro-Dentale Mikrobiologie / Labor Dres. Hauss, Kiel, Deutschland). Nach jeder Versuchsgruppe wurden die Implantate gereinigt, desinfiziert und sterilisiert, um die gleichen Bedingungen für jede Gruppe zu schaffen. Die Laborergebnisse wurden erst zur Verfügung gestellt, als alle Versuche komplett abgeschlossen waren. Die Auswertung der Daten, die zuvor aus Übersichtsgründen logarithmiert worden sind, erfolgte mit einem Mann-Whitney-U-Test und dem Kruskal-Wallis-Test. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt.

Die Ergebnisse der Studie legen nahe, dass es sowohl für die Spüllösung als auch für die Kombination Kaltplasma+Spüllösung zu einer suffizienten Dekontamination für die parodontalpathogenen Mikroorganismen kommt. Im Gesamtergebnis scheint die Kombination mit Kaltplasma für das TBL der reinen Spüllösung überlegen zu sein. Dies sind jedoch nur Tendenzen, da für keine Gegenüberstellung ein statistisch signifikantes Ergebnis erzielt wurde. Die Kombination von CHX und Plasma war im Vergleich zur Kombination NaCl und Plasma fast durchgehend effektiver, wenngleich kein signifikantes Ergebnis erzielt worden ist. Wie lange die desinfizierende Wirkung der einzelnen Mittel jedoch anhält bzw. ob die Kaltplasmatherapie nachträglich noch zu einer Dekontamination der Bakterien führt, muss in Langzeit- und in *in-vivo*-Versuchen geklärt werden. Unsere Ergebnisse sind im Sinne der Grundlagenforschung als Pilotprojekt zu sehen. Es scheint ein Mehrwert einer Kaltplasma unterstützten Dekontamination eines Biofilms am bzw. im Implantat vorhanden zu sein.

8 Anhang

8.1 Materialliste

Verbrauchsmaterialien:

- Universalkürette (Hu-Friedy, Mfg. Co., LLC., Frankfurt am Main, Deutschland)
- PCR single Cap 0,2 ml (Biozym, Hessisch Oldendorf, Deutschland)
- Eppendorf Tubes 3810X – Reaktionsgefäß (Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland)
- Sterile Papierspitzen ISO 60 (VDW GmbH, München, Deutschland)
- Minifix Messlehre (VDW GmbH, München, Deutschland)
- Implantate SICace® Implantate (SIC invent, Basel, Schweiz)
- Omnifix Luer-Lock Solo, 10 ml (B. Braun, Melsungen, Deutschland)
- Sterican Einmal-Kanülen Gr. 14 blau, Kanüle blau (B. Braun, Melsungen, Deutschland)
- Pinzette (handelsüblich)
- Toennis Nadelhalter (handelsüblich)
- B-Lok Tray ohne Einteilung (handelsüblich)

Laborgeräte:

- Plasma One Dental-Set (plasma MEDICAL SYSTEMS GmbH, Nassau, Deutschland)
- Vortex IR (Starlab International GmbH, Hamburg, Deutschland)
- Eppendorf Reference 2, 10 – 100 µL, gelb (Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland)
- Kühlschrank -4 °C (handelsüblich)
- Autoklav (handelsüblich)

Verwendete Reagenzien und Chemikalien:

- Isotonische (0,9 %) NaCl-Lösung (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland)
- 0,2 % Chlorhexidin (Kreussler Pharma, Wiesbaden, Deutschland)
- 500 µl fetales Kälberserum (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)

8.2 Ergebnisse der einzelnen Testgruppen

Tab. 7: Einzelergebnisse der pathogenen Mikroorganismen für NaCl

NaCl	Pathogen	Implantat Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vorher [x10 ⁴]	<i>A. actinomycetemcomitans</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. intermedia</i>		0	0	0	0	0	0	3,23	5,61	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>F. nucleatum ssp.</i>		2,74	1,32	10,31	3,79	14,88	3,26	5,73	10,19	0,88	2,94
Nachher [x10 ⁴]			0,05	0,63	0	0,04	0	0,23	0	0	0	0,07
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. gingivalis</i>		0,05	0,31	1,06	0,22	2,46	0,51	7,88	8,56	0,40	0,06
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>T. forsythia</i>		0,89	0,90	2,16	0,96	4,00	1,31	2,63	5,44	3,79	5,74
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0,38	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>T. denticola</i>		1,27	0,73	1,33	0,82	3,24	0,87	0,76	5,66	0,55	1,40
Nachher [x10 ⁴]			0	0,03	0	0,13	0,06	0,06	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. micra</i>		0	0	0	0	0,17	0	35,69	39,94	0,04	0,07
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0,13	0	0	0,15	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>C. rectus</i>		0,34	0,46	0,77	0,46	2,28	0,34	3,17	5,75	1,51	2,09
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0,21	0	0,06	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>E. corrodens</i>		0,84	0,55	1,32	0,39	3,27	0,56	4,94	8,50	0,61	1,18
Nachher [x10 ⁴]			0,03	0,17	0,04	0,03	0,11	0,08	0	0	0	0,16
Vorher [x10 ⁴]	<i>Candida Albicans</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>Actinomyceten Spp.</i>		4,11	0,12	320,01	110,21	110,11	200,00	500,10	500,10	11,31	31,10
Nachher [x10 ⁴]			0,01	0,01	0	0	0	10,00	100,00	0	0,01	0,11
Vorher [x10 ⁴]	TBL		113,75	38,50	41,69	24,06	63,13	39,38	295,00	277,50	94,38	80,63
Nachher [x10 ⁴]			72,50	76,25	21,44	17,19	26,69	48,31	186,25	544,38	80,63	14,25

Tab. 8: Einzelergebnisse der pathogenen Mikroorganismen für NaCl + Plasma

NaCl + Plasma	Pathogen	Implantat Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vorher [x10 ⁴]	<i>A. actinomycetemcomitans</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. intermedia</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>F. nucleatum ssp.</i>		3,35	9,06	36,56	2,11	3,50	5,55	1,00	1,11	3,56	7,50
Nachher [x10 ⁴]			0	0,08	0	1,98	0	0	23,50	20,38	0,03	0,00
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. gingivalis</i>		0,49	4,10	0,12	1,00	1,07	1,03	3,73	2,79	0,76	0,52
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0,17	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>T. forsythia</i>		0,73	1,69	13,69	0,65	1,90	2,19	8,50	4,82	10,19	7,56
Nachher [x10 ⁴]			1,00	0	0,05	0,25	0	0	63,75	0,16	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>T. denticola</i>		0,67	1,93	1,40	0,37	1,50	1,59	3,84	2,90	2,78	2,77
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0,26	0,03	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. micra</i>		0	0	1,23	0,08	0	0	0,66	0,29	0	1,03
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>C. rectus</i>		0,46	0,99	0,80	0,28	0,66	0,56	3,87	2,91	32,06	2,24
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0,12	0	0,05	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>E. corrodens</i>		0,98	1,79	0,81	0,19	0,41	0,89	3,33	3,46	1,28	2,06
Nachher [x10 ⁴]			0	0,06	0	0,45	0,04	0	0	0,90	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>Candida Albicans</i>		0	0	0	0	0	0	0	1,01	22,50	96,25
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0,81	86,88	12,44
Vorher [x10 ⁴]	<i>Actinomyceten Spp.</i>		22,10	32,03	402,00	0,20	401,11	320,00	300,20	400,11	201,00	30,12
Nachher [x10 ⁴]			0	1,01	0	2,01	101,00	0	0	110,10	0,10	0,02
Vorher [x10 ⁴]	TBL		135,63	180,63	42,38	31,44	31,25	32,38	300,63	133,75	91,25	166,88
Nachher [x10 ⁴]			68,13	80,63	17,25	18,69	28,31	81,88	306,25	145,00	40,50	18,56

Tab. 9: Einzelergebnisse der pathogenen Mikroorganismen für CHX

CHX	Pathogen	Implantat Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vorher [x10 ⁴]	<i>A. actinomycetemcomitans</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. intermedia</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>F. nucleatum ssp.</i>		0,93	4,24	16,06	26,44	1,79	14,19	0	0	4,19	3,54
Nachher [x10 ⁴]			0,11	0,22	0,05	0	0,05	0,06	48,44	52,38	0	0,12
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. gingivalis</i>		0,89	1,62	1,40	1,74	0,31	1,23	10,88	15,19	0,13	0,55
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>T. forsythia</i>		0,83	1,21	5,54	5,77	0,78	3,20	14,00	19,75	3,84	10,38
Nachher [x10 ⁴]			0	0,10	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vorher [x10 ⁴]	<i>T. denticola</i>		1,11	1,35	2,56	2,91	0,80	2,80	10,94	11,63	1,30	2,44
Nachher [x10 ⁴]			0,14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. micra</i>		0,21	0,32	0,00	0,46	0	0,11	0,21	2,75	0,12	0,63
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>C. rectus</i>		0,70	0,47	11,06	3,13	0,07	1,53	6,88	10,69	1,99	3,36
Nachher [x10 ⁴]			0,34	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>E. corrodens</i>		0,15	0,57	2,48	86,25	0,23	3,74	7,38	10,13	1,11	1,97
Nachher [x10 ⁴]			0,12	0,04	1,00	0,06	0,03	0,05	0	0,08	0	0,32
Vorher [x10 ⁴]	<i>Candida Albicans</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	33,19	334,38
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	366,25	18,50
Vorher [x10 ⁴]	<i>Actinomyceten Spp.</i>		2,31	13,10	221,00	320,20	2,10	411,00	500,12	600,11	201,12	230,00
Nachher [x10 ⁴]			0	0,01	0,01	0,01	100,00	0	0	100,00	0	0
Vorher [x10 ⁴]	TBL		33,88	131,88	63,75	54,88	84,38	62,50	536,88	496,25	80,63	196,88
Nachher [x10 ⁴]			127,50	113,13	25,31	23,38	40,13	16,19	81,25	127,50	211,88	166,88

Tab. 10: Einzelergebnisse der pathogenen Mikroorganismen für CHX + Plasma

CHX + Plasma	Pathogen	Implantat Nr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vorher [x10 ⁴]	<i>A. actinomycetemcomitans</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. intermedia</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>F. nucleatum ssp.</i>		1,89	14,88	19,94	11,56	2,75	6,56	0,30	14,81	4,65	8,88
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0,86	0,11	0	0	58,88	29,88	0,11	0,43
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. gingivalis</i>		0,16	1,57	2,91	1,24	0,87	2,08	9,56	2,51	0,98	1,61
Nachher [x10 ⁴]			0	0	1,19	0,00	0	0	6,94	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>T. forsythia</i>		0,53	2,76	4,96	3,69	1,40	2,45	16,63	5,46	5,04	13,13
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0,98	0	0	0	4,93	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>T. denticola</i>		0,66	2,89	3,34	1,87	1,11	2,37	6,13	3,31	1,21	4,71
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0,58	0	0	0	1,13	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>P. micra</i>		0	3,89	0,69	0,25	0,00	0	1,10	0,26	0,41	0,46
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0,16	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>C. rectus</i>		0,38	1,63	2,51	1,53	0,32	0,93	8,13	3,59	1,81	4,29
Nachher [x10 ⁴]			0	0,07	0,79	0,16	0,00	0	0,84	0	0	0
Vorher [x10 ⁴]	<i>E. corrodens</i>		0,23	1,62	2,74	1,36	0,30	1,39	13,50	4,20	0,91	6,63
Nachher [x10 ⁴]			0,07	0	0	0,67	0	0	0,10	0	0,15	0,08
Vorher [x10 ⁴]	<i>Candida Albicans</i>		0	0	0	0	0	0	0,56	0	46,19	420,00
Nachher [x10 ⁴]			0	0	0	0	0	0	0	0	75,00	28,13
Vorher [x10 ⁴]	<i>Actinomyceten Spp.</i>		1,02	23,00	230,01	230,11	100,10	500,00	501,01	111,12	201,20	41,01
Nachher [x10 ⁴]			10,21	0	11,01	10,02	0,00	0,10	1,00	0,01	0,001	0,001
Vorher [x10 ⁴]	TBL		100,63	159,38	91,88	98,13	21,88	75,63	498,75	418,75	150,00	421,25
Nachher [x10 ⁴]			62,31	73,75	65,63	18,94	27,44	35,75	266,25	119,38	112,50	100,00

8.3 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Unterschied einteilige vs. zweiteilige Implantatsysteme	9
Abb. 2: Verbindungsarten von Implantat zu Abutment. Links: Konusverbindung, Mitte: externe Verbindung, Rechts: interne Verbindung	10
Abb. 3: Potenzielle Hohlräume eines enossalen Implantates (orange gekennzeichnet)	12
Abb. 4: Bakteriell kontaminierter Mikrospace, der durch den Pumpeffekt zur Kontamination des Weich- und Hartgewebes führt und dadurch einen Knochenabbau verursacht (modifiziert nach Zipprich et al., 2007)	13
Abb. 5: Einteilung von Faktoren für das Implantatüberleben (modifiziert nach Esposito et al., 2007; Mombelli und Cionca, 2006)	14
Abb. 6: Ausblick einiger Möglichkeiten von ROS-/RNS-Radikalen (modifiziert nach Fang, 2004; Nathan und Shiloh, 2000, ergänzt um ROS-Formationen von Mai-Prochnow et al., 2021)	24
Abb. 7: Möglichkeit zur Einteilung gängiger Modifikationen von Plasmageräten. Zur besseren Übersicht wird auf weitere Subtypen verzichtet und nur auf die gängigsten Geräte eingegangen (modifiziert nach Helmke, 2016). Je nach Gewichtung unterschiedlicher Autoren werden z.B. Plasmatorch und -jet auch zusammengefasst.	26
Abb. 8: Funktionsweise der gängigsten Gerätemodifikationen (modifiziert nach Weltmann et al., 2010)	28
Abb. 9: Übersicht der verwendeten Materialien: Spüllösungen links; sterile Papierspitzen, Messlehre, kontaminierte Implantate zentral; Plasma-One-Gerät rechts	30
Abb. 10: Geräte zur Kontamination der Implantate: Pipette, Eppendorf Tubes mit Aliquot, Vortex IR und sterile Implantate (n=10)	30
Abb. 11 a-b): Chronologische Gliederung der Versuchsdurchführung	32
Abb. 12: Versuchsaufbau	32
Abb. 13: Darstellung des TBL für die einzelnen Versuchsreihen. Grün: TBL vor Therapie; Blau: TBL nach Therapie; Gelb: Differenz der TBL vor – und nach Therapie; Roter Punkt: Darstellung der prozentualen Reduktion	37
Abb. 14a) und b): Entwicklung des TBL, <i>F. n.</i> und roten Komplexes gemessen im Implantatinnenraum vor und nach Spülung bzw. Spülung mit zusätzlicher Kaltplasmatherapie. Jede Linie zeigt die Veränderung des einzelnen Implantates. Für Implantate 7 (rot) und 8 (dunkelblau) ergeben sich teilweise negative Reduktionen, s. a). Als potenziell verunreinigte Proben entfallen sie in b). N: NaCl; N + P: NaCl + Plasma; C: CHX; C + P: CHX + Plasma.	41
Abb. 15: Darstellung der <i>Actinomyces</i> für die einzelnen Versuchsreihen. Grün: <i>Actinomyces</i> vor Therapie; Blau: <i>Actinomyces</i> nach Therapie; Gelb: Differenz der <i>Actinomyces</i> vor – und nach Therapie; Roter Punkt: Darstellung der prozentualen Reduktion	42
Abb. 16: Darstellung des TBL sowie einzelner Parodontalpathogene als Vergleich der Keimbelastung vor und nach chemischer und chemo-physikalischer Reinigung vom Implantatinnenraum. 3 zeigt einen Bereich $\geq 10^3$, aber $< 10^4$ Bakterien/ Plaque-Probe, 4 bezeichnet einen Bereich $\geq 10^4$, aber $< 10^5$ Bakterien/ Plaque-Probe, 5 zeigt einen	

Bereich $\geq 10^5$, aber $< 10^6$ Bakterien/ Plaque-Probe an, 6 zeigt einen Bereich $\geq 10^6$ Bakterien/ Plaque-Probe an. Je dunkler die Schattierung, desto höher ist die Keimbelastung. Die Werte sind paarweise angeordnet, sortiert nach dem Wert mit der höchsten Ausgangsmessung (modifiziert nach Mombelli et al., 1995). 43

Abb. 17: Anteil vollständig dekontaminierter Implantate für die Parodontalpathogene des roten bzw. orangenen Komplexes je nach festgelegter Nachweisgrenze 44

8.4 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Reduktion des TBL	36
Tab. 2: Summe der einzelnen pathogenen Mikroorganismen sowie des TBL (jeweils n=10)	39
Tab. 3: Reduktion <i>F. nucleatum</i> ohne Implantat sieben und acht	39
Tab. 4: Reduktion der <i>Actinomyceten</i> Spp.	42
Tab. 5: Nicht signifikanter Einfluss einer adjuvanten Kaltplasmatherapie zur Dekontamination eines Implantatinnenraumes mittels Mann-Whitney-U-Test	45
Tab. 6: Nicht signifikanter Einfluss einer adjuvanten Kaltplasmatherapie zur Dekontamination eines Implantatinnenraumes mittels Kruskal-Wallis-(H-)Test	46
Tab. 7: Einzelergebnisse der pathogenen Mikroorganismen für NaCl	75
Tab. 8: Einzelergebnisse der pathogenen Mikroorganismen für NaCl + Plasma	75
Tab. 9: Einzelergebnisse der pathogenen Mikroorganismen für CHX	76
Tab. 10: Einzelergebnisse der pathogenen Mikroorganismen für CHX + Plasma	76

9 Literaturverzeichnis

Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Brånemark P-I, Jemt T. A long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 1990; 5

Albrektsson T, Isidor F, British Society of Periodontology, Danish Society of Periodontology, Dutch Society of Periodontology. 1994. Consensus report of Session IV. Verfügbar unter <https://www.tib.eu/de/suchen/id/BLCP%3ACN008849730>

Alkawareek MY, Algwari QT, Gorman SP, Graham WG, O'Connell D, Gilmore BF. Application of atmospheric pressure nonthermal plasma for the in vitro eradication of bacterial biofilms. *FEMS immunology and medical microbiology* 2012; 65: 381–384

Alkawareek MY, Gorman SP, Graham WG, Gilmore BF. Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma. *International journal of antimicrobial agents* 2014; 43: 154–160

Annunziata M, Canullo L, Donnarumma G, Caputo P, Nastri L, Guida L. Bacterial inactivation/sterilization by argon plasma treatment on contaminated titanium implant surfaces: In vitro study. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal* 2016; 21: e118-21

Araujo MG, Lindhe J. Peri-implant health. *Journal of periodontology* 2018; 89 Suppl 1: S249-S256

Arndt S, Unger P, Wacker E, Shimizu T, Heinlin J, Li Y-F, Thomas HM, Morfill GE, Zimmermann JL, Bosserhoff A-K, Karrer S. Cold atmospheric plasma (CAP) changes gene expression of key molecules of the wound healing machinery and improves wound healing in vitro and in vivo. *PloS one* 2013; 8: e79325

Atieh MA, Alsabeeha NHM, Faggion CM, JR, Duncan WJ. The frequency of peri-implant diseases: a systematic review and meta-analysis. *Journal of periodontology* 2013; 84: 1586–1598

Attri P, Sarinont T, Kim M, Amano T, Koga K, Cho AE, Choi EH, Shiratani M. Influence of ionic liquid and ionic salt on protein against the reactive species generated using dielectric barrier discharge plasma. *Scientific reports* 2015; 5: 17781

Belibasakis GN. Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Archives of oral biology* 2014; 59: 66–72

Belibasakis GN, Charalampakis G, Bostanci N, Stadlinger B. Peri-implant infections of oral biofilm etiology. *Advances in experimental medicine and biology* 2015; 830: 69–84

Bellan PM. *Fundamentals of plasma physics*. Cambridge: Cambridge University Press 2006

Berglundh T, Armitage G, Araujo MG, Avila-Ortiz G, Blanco J, Camargo PM, Chen S, Cochran D, Derks J, Figuero E, Hämmerle CHF, Heitz-Mayfield LJA, Huynh-Ba G, Iacono V, Koo K-T, Lambert F, McCauley L, Quirynen M, Renvert S, Salvi GE, Schwarz F, Tarnow D, Tomasi C, Wang H-L, Zitzmann N. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of clinical periodontology* 2018; 45 Suppl 20: S286-S291

Berglundh T, Gotfredsen K, Zitzmann NU, Lang NP, Lindhe J. Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface roughness: an experimental study in dogs. *Clinical oral implants research* 2007; 18: 655–661

Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *Journal of clinical periodontology* 2002; 29 Suppl 3: 197-212; discussion 232-3

Binon PP. Implants and components: entering the new millennium. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 2000; 15: 76–94

Brånemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery* 1969; 3: 81–100

Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery. Supplementum* 1977; 16: 1–132

Broggini N, McManus LM, Hermann JS, Medina RU, Oates TW, Schenk RK, Buser D, Mellonig JT, Cochran DL. Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. *Journal of dental research* 2003; 82: 232–237

Cacaci C. *Orale Implantologie*. Stuttgart: Thieme 2006

Callan DP, Cobb CM, Williams KB. DNA probe identification of bacteria colonizing internal surfaces of the implant-abutment interface: a preliminary study. *Journal of periodontology* 2005; 76: 115–120

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. *Clinical oral implants research* 2013; 24: 606–611

Canullo L, Peñarrocha-Oltra D, Covani U, Rossetti PHO. Microbiologic and Clinical Findings of Implants in Healthy Condition and with Peri-Implantitis. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 2015; 30: 834–842

Carreiro AFP, Delben JA, Guedes S, Silveira EJD, Janal MN, Vergani CE, Pushalkar S, Duarte S. Low-temperature plasma on peri-implant-related biofilm and gingival tissue. *Journal of periodontology* 2019; 90: 507–515

Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti MS. A new classification scheme for periodontal and

peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of clinical periodontology* 2018; 45 Suppl 20: S1-S8

Claire Tendero, Christelle Tixier, Pascal Tristant, Jean Desmaison, Philippe Leprince. Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 2006; 61: 2–30

Conrads H, Schmidt M. Plasma generation and plasma sources. *Plasma Sources Science and Technology* 2000; 9: 441

Da Silva-Neto JP, Prudente MS, Carneiro, Thiago de Almeida Prado Naves, Nóbilo, Mauro Antônio de Arruda, Penatti MPA, Neves FDd. Micro-leakage at the implant-abutment interface with different tightening torques in vitro. *Journal of applied oral science : revista FOB* 2012; 20: 581–587

Dabdoub SM, Tsigarida AA, Kumar PS. Patient-specific analysis of periodontal and peri-implant microbiomes. *Journal of dental research* 2013; 92: 168S-75S

Delben JA, Zago CE, Tyhovych N, Duarte S, Vergani CE. Effect of Atmospheric-Pressure Cold Plasma on Pathogenic Oral Biofilms and In Vitro Reconstituted Oral Epithelium. *PloS one* 2016; 11: e0155427

Deng Z-L, Szafranski SP, Jarek M, Bhuju S, Wagner-Döbler I. Dysbiosis in chronic periodontitis: Key microbial players and interactions with the human host. *Scientific reports* 2017; 7: 3703

D'Ercole S, Tetè S, Catamo G, Sammartino G, Femminella B, Tripodi D, Spoto G, Paolantonio M. Microbiological and biochemical effectiveness of an antiseptic gel on the bacterial contamination of the inner space of dental implants: a 3-month human longitudinal study. *International journal of immunopathology and pharmacology* 2009; 22: 1019–1026

Derks J, Tomasi C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *Journal of clinical periodontology* 2015; 42 Suppl 16: S158-71

Dijksteel GS, Ulrich MMW, Vlig M, Sobota A, Middelkoop E, Boekema, Bouke K H L. Safety and bactericidal efficacy of cold atmospheric plasma generated by a flexible surface Dielectric Barrier Discharge device against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 2020; 19: 37

do Nascimento C, Barbosa RES, Issa JPM, Watanabe E, Ito IY, de Albuquerque Junior, Rubens Ferreira. Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to evaluate the internal contamination of dental implants and comparison of bacterial leakage with cast or pre-machined abutments. *Clinical oral implants research* 2009; 20: 571–577

Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases* 2002; 8: 881–890

Duarte ARC, Rossetti PHO, Rossetti LMN, Torres SA, Bonachela WC. In vitro sealing ability of two materials at five different implant-abutment surfaces. *Journal of periodontology* 2006; 77: 1828–1832

Eggers B, Marciniak J, Memmert S, Kramer FJ, Deschner J, Nokhbehshaim M. The beneficial effect of cold atmospheric plasma on parameters of molecules and cell function involved in wound healing in human osteoblast-like cells in vitro. *Odontology* 2020; 108: 607–616

Eggers B, Stope MB, Marciniak J, Götz W, Mustea A, Deschner J, Nokhbehshaim M, Kramer F-J. Non-Invasive Physical Plasma Generated by a Medical Argon Plasma Device Induces the Expression of Regenerative Factors in Human Gingival Keratinocytes, Fibroblasts, and Tissue Biopsies. *Biomedicines* 2022; 10: 889

Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scandinavian journal of dental research* 1977; 85: 255–265

Enkling N, Jöhren P, Katsoulis J, Bayer S, Jervøe-Storm P-M, Mericske-Stern R, Jepsen S. Influence of platform switching on bone-level alterations: a three-year randomized clinical trial. *Journal of dental research* 2013; 92: 139S-45S

Enkling N, Jöhren P, Klimberg T, Mericske-Stern R, Jervøe-Storm P-M, Bayer S, Gülden N, Jepsen S. Open or submerged healing of implants with platform switching: a randomized, controlled clinical trial. *Journal of clinical periodontology* 2011; 38: 374–384

Esposito M, Murray-Curtis L, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: different types of dental implants. *The Cochrane database of systematic reviews* 2007: CD003815

Ezzo PJ, Cutler CW. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. *Periodontology* 2000 2003; 32: 24–35

Fang FC. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2: 820–832

Fretwurst T, Nelson K, Tarnow DP, Wang H-L, Giannobile WV. Is Metal Particle Release Associated with Peri-implant Bone Destruction? An Emerging Concept. *Journal of dental research* 2018; 97: 259–265

Fricke K, Koban I, Tresp H, Jablonowski L, Schröder K, Kramer A, Weltmann K-D, Woedtke T von, Kocher T. Atmospheric pressure plasma: a high-performance tool for the efficient removal of biofilms. *PloS one* 2012; 7: e42539

Fridman G, Brooks AD, Balasubramanian M, Fridman A, Gutsol A, Vasilets VN, Ayan H, Friedman G. Comparison of Direct and Indirect Effects of Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma on Bacteria. *Plasma Process. Polym.* 2007; 4: 370–375

Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets VN, Fridman A. Applied Plasma Medicine. *Plasma Process. Polym.* 2008; 5: 503–533

Gerling T, Weltmann KD. Einführung in Atmosphärendruck-Plasmaquellen für plasmamedizinische Anwendungen. In: Metelmann H-R, Woedtke T von, Weltmann K-D, Hrsg. *Plasmamedizin: Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016: 3–15

Graves DB. Oxy-nitroso shielding burst model of cold atmospheric plasma therapeutics. *Clinical Plasma Medicine* 2014a; 2: 38–49

Graves DB. Reactive Species from Cold Atmospheric Plasma: Implications for Cancer Therapy. *Plasma Process. Polym.* 2014b; 11: 1120–1127

Groenendijk E, Dominicus JJK, Moorer WR, Aartman IHA, van Waas, Marinus A J. Microbiological and clinical effects of chlorhexidine enclosed in fixtures of 3I-Titamed implants. *Clinical oral implants research* 2004; 15: 174–179

Groß K, Schmidt M, Groß D. Zahnimplantate–Boom ohne Grenzen? 2019

Gupta TT, Karki SB, Matson JS, Gehling DJ, Ayan H, Anné J. Sterilization of Biofilm on a Titanium Surface Using a Combination of Nonthermal Plasma and Chlorhexidine Digluconate. *BioMed research international* 2017; 2017: 6085741

Haertel B, Straßenburg S, Oehmigen K, Wende K, Woedtke T von, Lindequist U. Differential influence of components resulting from atmospheric-pressure plasma on integrin expression of human HaCaT keratinocytes. *BioMed research international* 2013; 2013: 761451

Haertel B, Woedtke T von, Weltmann K-D, Lindequist U. Non-thermal atmospheric-pressure plasma possible application in wound healing. *Biomolecules & therapeutics* 2014; 22: 477–490

Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology* 2000 1994; 5: 78–111

Hafner S, Ehrenfeld M, Neumann A-C, Wieser A. Comparison of the bactericidal effect of cold atmospheric pressure plasma (CAPP), antimicrobial photodynamic therapy (aPDT), and polihexanide (PHX) in a novel wet surface model to mimic oral cavity application. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 2018; 46: 2197–2202

Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Molecular oral microbiology* 2012; 27: 409–419

Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskin MA, McIntosh ML, Alsam A, Kirkwood KL, Lambris JD, Darveau RP, Curtis MA. Low-abundance biofilm

species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell host & microbe* 2011; 10: 497–506

Handorf O, Weihe T, Bekeschus S, Graf AC, Schnabel U, Riedel K, Ehlbeck J. Nonthermal Plasma Jet Treatment Negatively Affects the Viability and Structure of *Candida albicans* SC5314 Biofilms. *Applied and environmental microbiology* 2018; 84

Heitz-Mayfield LJA, Salvi GE. Peri-implant mucositis. *Journal of clinical periodontology* 2018; 45 Suppl 20: S237-S245

Hellwig E, Schäfer E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. Köln: Deutscher Ärzteverlag 2018

Helmke A. Niedertemperaturplasma: Eigenschaften, Wirkungen und Gerätetechnik. In: Metelmann H-R, Woedtke T von, Weltmann K-D, Hrsg. *Plasmamedizin: Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016: 33–45

Herbst SR, Hertel M, Ballout H, Pierdzioch P, Weltmann K-D, Wirtz HC, Abu-Sirhan S, Kostka E, Paris S, Preissner S. Bactericidal Efficacy of Cold Plasma at Different Depths of Infected Root Canals In Vitro. *The open dentistry journal* 2015; 9: 486–491

Howe M-S, Keys W, Richards D. Long-term (10-year) dental implant survival: A systematic review and sensitivity meta-analysis. *Journal of dentistry* 2019; 84: 9–21

Ibis F, Oflaz H, Ercan UK. Biofilm Inactivation and Prevention on Common Implant Material Surfaces by Nonthermal DBD Plasma Treatment. *Plasma Med* 2016; 6: 33–45

Idlibi AN, Al-Marrawi F, Hannig M, Lehmann A, Rueppell A, Schindler A, Jentsch H, Rupf S. Destruction of oral biofilms formed in situ on machined titanium (Ti) surfaces by cold atmospheric plasma. *Biofouling* 2013; 29: 369–379

Jeong W-S, Kwon J-S, Choi E-H, Kim K-M. The Effects of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma treated Titanium Surface on Behaviors of Oral Soft Tissue Cells. *Scientific reports* 2018; 8: 15963

Jeong W-S, Kwon J-S, Lee J-H, Uhm S-H, Ha Choi E, Kim K-M. Bacterial attachment on titanium surfaces is dependent on topography and chemical changes induced by nonthermal atmospheric pressure plasma. *Biomedical materials (Bristol, England)* 2017; 12: 45015

Jepsen S, Berglundh T, Genco R, Aass AM, Demirel K, Derks J, Figuero E, Giovannoli JL, Goldstein M, Lambert F, Ortiz-Vigon A, Polyzois I, Salvi GE, Schwarz F, Serino G, Tomasi C, Zitzmann NU. Primary prevention of peri-implantitis: managing peri-implant mucositis. *Journal of clinical periodontology* 2015; 42 Suppl 16: S152-7

Jervøe-Storm P-M, Hablützel AS, Bartels P, Kraus D, Jepsen S, Enkling N. Comparison of irrigation protocols for the internal decontamination of dental implants-results of in vitro and in vivo studies. *Clinical oral implants research* 2021; 32: 1168–1175

Jervøe-Storm P-M, Jepsen S, Jöhren P, Mericske-Stern R, Enkling N. Internal bacterial colonization of implants: association with peri-implant bone loss. *Clinical oral implants research* 2015; 26: 957–963

Jervøe-Storm P-M, Koltzsch M, Falk W, Dörfler A, Jepsen S. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples. *Journal of clinical periodontology* 2005; 32: 778–783

Kalghatgi S, Friedman G, Fridman A, Clyne AM. Endothelial cell proliferation is enhanced by low dose non-thermal plasma through fibroblast growth factor-2 release. *Annals of biomedical engineering* 2010; 38: 748–757

Kamgang-Youbi G, Herry J-M, Brisset J-L, Bellon-Fontaine M-N, Doubla A, Naïtali M. Impact on disinfection efficiency of cell load and of planktonic/adherent/detached state: case of *Hafnia alvei* inactivation by plasma activated water. *Applied microbiology and biotechnology* 2008; 81: 449–457

Kamgang-Youbi G, Herry J-M, Meylheuc T, Brisset J-L, Bellon-Fontaine M-N, Doubla A, Naïtali M. Microbial inactivation using plasma-activated water obtained by gliding electric discharges. *Letters in applied microbiology* 2009; 48: 13–18

Kang MH, Hong YJ, Attri P, Sim GB, Lee GJ, Panngom K, Kwon GC, Choi EH, Uhm HS, Park G. Analysis of the antimicrobial effects of nonthermal plasma on fungal spores in ionic solutions. *Free radical biology & medicine* 2014; 72: 191–199

Kelar Tučeková Z, Vacek L, Krumpolec R, Kelar J, Zemánek M, Černák M, Růžička F. Multi-Hollow Surface Dielectric Barrier Discharge for Bacterial Biofilm Decontamination. *Molecules (Basel, Switzerland)* 2021; 26

Kern J, Wolfart S. 2020. S3-Leitlinie: Implantatprothetische Versorgung des zahnlosen Oberkiefers

Kim J-J, Lee J-H, Kim JC, Lee J-B, Yeo I-SL. Biological Responses to the Transitional Area of Dental Implants: Material- and Structure-Dependent Responses of Peri-Implant Tissue to Abutments. *Materials (Basel, Switzerland)* 2019; 13

Kleineidam B, Nokhbehshaim M, Deschner J, Wahl G. Effect of cold plasma on periodontal wound healing—an in vitro study. *Clinical Oral Investigations* 2019; 23: 1941–1950

Koban I, Geisel MH, Holtfreter B, Jablonowski L, Hübner N-O, Matthes R, Masur K, Weltmann K-D, Kramer A, Kocher T. Synergistic Effects of Nonthermal Plasma and Disinfecting Agents against Dental Biofilms In Vitro. *ISRN dentistry* 2013; 2013: 573262

Koban I, Holtfreter B, Hübner N-O, Matthes R, Sietmann R, Kindel E, Weltmann K-D, Welk A, Kramer A, Kocher T. Antimicrobial efficacy of non-thermal plasma in comparison to chlorhexidine against dental biofilms on titanium discs in vitro - proof of principle experiment. *Journal of clinical periodontology* 2011; 38: 956–965

Koban I, Matthes R, Hübner N-O, Welk A, Meisel P, Holtfreter B, Sietmann R, Kindel E, Weltmann K-D, Kramer A, Kocher T. Treatment of *Candida albicans* biofilms with low-temperature plasma induced by dielectric barrier discharge and atmospheric pressure plasma jet. *New Journal of Physics* 2010; 12: 73039

Implantologie. Koeck B, Wagner W, Reg. München: Urban & Fischer 2002

Kogelschatz U. Atmospheric-pressure plasma technology. *Plasma Physics and Controlled Fusion* 2004; 46: B63

Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Egland PG, Foster JS, Palmer RJ. Communication among Oral Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2002; 66: 486

Kolonidis SG, Renvert S, Hämmerle CHF, Lang NP, Harris D, Claffey N. Osseointegration on implant surfaces previously contaminated with plaque. An experimental study in the dog. *Clinical oral implants research* 2003; 14: 373–380

Kong MG, Kroesen G, Morfill G, Nosenko T, Shimizu T, van Dijk J, Zimmermann JL. Plasma medicine: an introductory review. *New J. Phys.* 2009; 11: 115012

Lang NP, Mombelli A, Tonetti MS, Brägger U, Hämmerle CH. Clinical trials on therapies for peri-implant infections. *Annals of periodontology* 1997; 2: 343–356

Laroussi M. Sterilization of contaminated matter with an atmospheric pressure plasma. *IEEE Transactions on Plasma Science* 1996; 24: 1188–1191

Laroussi M, Fridman A, Satava RM. Editorial. *Plasma Process. Polym.* 2008; 5: 501–502

Lee J-Y, Kim K-H, Park S-Y, Yoon S-Y, Kim G-H, Lee Y-M, Rhyu I-C, Seol Y-J. The bactericidal effect of an atmospheric-pressure plasma jet on *Porphyromonas gingivalis* biofilms on sandblasted and acid-etched titanium discs. *Journal of periodontal & implant science* 2019a; 49: 319–329

Lee M-J, Kwon J-S, Jiang HB, Choi EH, Park G, Kim K-M. The antibacterial effect of non-thermal atmospheric pressure plasma treatment of titanium surfaces according to the bacterial wall structure. *Scientific reports* 2019b; 9: 1938

Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, Socransky SS, Oppenheim FG. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *Journal of applied microbiology* 2004; 97: 1311–1318

Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of clinical periodontology* 2008; 35: 282–285

Liu S, Li M, Yu J. Does chlorhexidine improve outcomes in non-surgical management of peri-implant mucositis or peri-implantitis?: a systematic review and meta-analysis. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal* 2020; 25: e608-e615

Loomer PM. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. *Periodontology* 2000 2004; 34: 49–56

Lu X, Laroussi M, Puech V. On atmospheric-pressure non-equilibrium plasma jets and plasma bullets. *Plasma Sources Sci. Technol.* 2012; 21: 34005

Mai-Prochnow A, Clauson M, Hong J, Murphy AB. Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Scientific reports* 2016; 6: 38610

Mai-Prochnow A, Zhou R, Zhang T, Ostrikov KK, Mugunthan S, Rice SA, Cullen PJ. Interactions of plasma-activated water with biofilms: inactivation, dispersal effects and mechanisms of action. *NPJ biofilms and microbiomes* 2021; 7: 11

Maisch T, Shimizu T, Isbary G, Heinlin J, Karrer S, Klämpfl TG, Li Y-F, Morfill G, Zimmermann JL. Contact-free inactivation of *Candida albicans* biofilms by cold atmospheric air plasma. *Applied and environmental microbiology* 2012; 78: 4242–4247

Mariño GB. Challenges in Biofilm Inactivation: The Use of Cold Plasma as a New Approach. *J Bioprocess Biotechniq* 2012; 02

Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries research* 2004; 38: 204–211

Maruyama N, Maruyama F, Takeuchi Y, Aikawa C, Izumi Y, Nakagawa I. Intraindividual variation in core microbiota in peri-implantitis and periodontitis. *Scientific reports* 2014; 4: 6602

Matthes R, Bender C, Schlüter R, Koban I, Bussiahn R, Reuter S, Lademann J, Weltmann K-D, Kramer A. Antimicrobial efficacy of two surface barrier discharges with air plasma against in vitro biofilms. *PloS one* 2013; 8: e70462

McGlumphy EA, Mendel DA, Holloway JA. Implant screw mechanics. *Dental clinics of North America* 1998; 42: 71–89

Metelmann H-R. 2022. Rationaler therapeutischer Einsatz von kaltem physikalischem Plasma. Verfügbar unter <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/053-054.html>

Meyer F, Enax J. Die Mundhöhle als Ökosystem. *Biol. Unserer Zeit* 2018; 48: 62–68

Mishra SK, Chowdhary R, Kumari S. Microleakage at the Different Implant Abutment Interface: A Systematic Review. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR* 2017; 11: ZE10-ZE15

Modic M, McLeod NP, Sutton JM, Walsh JL. Cold atmospheric pressure plasma elimination of clinically important single- and mixed-species biofilms. *International journal of antimicrobial agents* 2017; 49: 375–378

Mombelli A, Cionca N. Systemic diseases affecting osseointegration therapy. *Clinical oral implants research* 2006; 17 Suppl 2: 97–103

Mombelli A, Décaillet F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *Journal of clinical periodontology* 2011; 38 Suppl 11: 203–213

Mombelli A, Marxer M, Gaberthüel T, Grunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology* 1995; 22: 124–130

Mombelli A, Müller N, Cionca N. The epidemiology of peri-implantitis. *Clinical oral implants research* 2012; 23 Suppl 6: 67–76

Morfill GE, Kong MG, Zimmermann JL. Focus on Plasma Medicine. *New J. Phys.* 2009; 11: 115011

Murray PR. *Manual of clinical microbiology*. Washington, D.C.: ASM Press 1999

Nathan C, Shiloh MU. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000; 97: 8841–8848

Nationales Zentrum für Plasmamedizin. 2018. Stellungnahme des Vorstandes des Nationalen Zentrums für Plasmamedizin e.V. (NZPM) zu Möglichkeiten und Grenzen der Plasmamedizin

Neuber JU. Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma for Sterilization of Surfaces and Biofilms

Neumeister B, Burkhardt F. Mikrobiologische Diagnostik. Stuttgart: Thieme 2009

Nicol MJ, Brubaker TR, Honish BJ, Simmons AN, Kazemi A, Geissel MA, Whalen CT, Siedlecki CA, Bilén SG, Knecht SD, Kirimanjeswara GS. Antibacterial effects of low-temperature plasma generated by atmospheric-pressure plasma jet are mediated by reactive oxygen species. *Scientific reports* 2020; 10: 3066

Niedźwiedź I, Waśko A, Pawłat J, Polak-Berecka M. The State of Research on Antimicrobial Activity of Cold Plasma. *Polish journal of microbiology* 2019; 68: 153–164

Nosenko T, Shimizu T, Morfill GE. Designing plasmas for chronic wound disinfection. *New J. Phys.* 2009; 11: 115013

Persson GR, Renvert S. Cluster of bacteria associated with peri-implantitis. *Clinical implant dentistry and related research* 2014; 16: 783–793

Pietro Favia, Riccardo d'Agostino. Plasma treatments and plasma deposition of polymers for biomedical applications. *Surface and Coatings Technology* 1998; 98: 1102–1106

Pjetursson BE, Thoma D, Jung R, Zwahlen M, Zembic A. A systematic review of the survival and complication rates of implant-supported fixed dental prostheses (FDPs) after a mean observation period of at least 5 years. *Clinical oral implants research* 2012; 23 Suppl 6: 22–38

Prithviraj DR, Gupta V, Muley N, Sandhu P. One-piece implants: placement timing, surgical technique, loading protocol, and marginal bone loss. *Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists* 2013; 22: 237–244

Quirynen M, van Steenberghe D. Bacterial colonization of the internal part of two-stage implants. An in vivo study. *Clinical oral implants research* 1993; 4: 158–161

R. Suchentrunk, G. Staudigl, D. Jonke, H.J. Fuesser. Industrial applications for plasma processes—examples and trends. *Surface and Coatings Technology* 1997; 97: 1–9

Rao Y, Shang W, Yang Y, Zhou R, Rao X. Fighting Mixed-Species Microbial Biofilms With Cold Atmospheric Plasma. *Frontiers in microbiology* 2020; 11: 1000

Robert-Koch-Institut, RKI. Infektionsprävention in Heimen—Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert-Koch-Institut (RKI). *Bundesgesundheitsblatt–Gesundheitsforschung–Gesundheitsschutz* 2005; 48: 1061–1080

Rölla G, Melsen B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. *Journal of dental research* 1975; 54 Spec No B: B57-62

Rosenberg ES, Torosian JP, Slots J. Microbial differences in 2 clinically distinct types of failures of osseointegrated implants. *Clinical oral implants research* 1991; 2: 135–144

Rupf S, Idlibi AN, Marrawi FA, Hannig M, Schubert A, Mueller L von, Spitzer W, Holtmann H, Lehmann A, Rueppell A, Schindler A. Removing biofilms from microstructured titanium ex vivo: a novel approach using atmospheric plasma technology. *PloS one* 2011; 6: e25893

Ryu Y-H, Kim Y-H, Lee J-Y, Shim G-B, Uhm H-S, Park G, Choi EH. Effects of background fluid on the efficiency of inactivating yeast with non-thermal atmospheric pressure plasma. *PloS one* 2013; 8: e66231

Salvi GE, Bosshardt DD, Lang NP, Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J, Ivanovski S, Donos N. Temporal sequence of hard and soft tissue healing around titanium dental implants. *Periodontology 2000* 2015; 68: 135–152

Sanchez-Perez A, Nicolas-Silvente AI, Sanchez-Matas C, Cascales-Pina E, Macia-Manresa V, Romanos GE. Control of Peri-Implant Mucous Inflammation by Using

Chlorhexidine or Ultraviolet C Radiation for Cleaning Healing Abutments. Double-Blind Randomized Clinical Trial. *Materials* (Basel, Switzerland) 2020; 13

Schramm S, Hiller K-A, Cantzler S, Weilemann H, Cantzler M, Zimmermann JL, Cieplik F, Maisch T. The Latest Time Point of Retreatment (LTPR) as a Novel Method to Determine Antibacterial Effects for Binary Use of Cold Atmospheric Plasma and Conventional Agents. *Frontiers in microbiology* 2020; 11: 576500

Schwarz F, Becker J. Die Behandlung periimplantärer Infektionen an Zahnimplantaten. S3-Leitlinie. AWMF-Registernummer 2016: 083-023

Schwarz F, Becker K, Rahn S, Hegewald A, Pfeffer K, Henrich B. Real-time PCR analysis of fungal organisms and bacterial species at peri-implantitis sites. *International journal of implant dentistry* 2015a; 1: 9

Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang H-L. Peri-implantitis. *Journal of periodontology* 2018; 89 Suppl 1: S267-S290

Schwarz F, Schmucker A, Becker J. Efficacy of alternative or adjunctive measures to conventional treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *International journal of implant dentistry* 2015b; 1: 22

Schwenzer N, Ehrenfeld M. *Zahnärztliche Chirurgie*. Stuttgart: Thieme 2019

Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *Journal of periodontology* 1992; 63: 322–331

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, JR. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology* 1998; 25: 134–144

Souza JGS, Lima CV, Costa Oliveira BE, Ricomini-Filho AP, Faveri M, Sukotjo C, Feres M, Del Bel Cury, Altair Antoninha, Barão VAR. Dose-response effect of chlorhexidine on a multispecies oral biofilm formed on pure titanium and on a titanium-zirconium alloy. *Biofouling* 2018; 34: 1175–1184

Stalder KR, Woloszko J. Some Physics and Chemistry of Electrosurgical Plasma Discharges. *Contrib. Plasma Phys.* 2007; 47: 64–71

Steinebrunner L, Wolfart S, Bössmann K, Kern M. In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 2005; 20: 875–881

Stoffels E, Roks AJM, Deelman LE. Delayed Effects of Cold Atmospheric Plasma on Vascular Cells. *Plasma Process. Polym.* 2008; 5: 599–605

Tsui C, Kong EF, Jabra-Rizk MA. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathogens and disease* 2016; 74: ftw018

Vinhas AS, Aroso C, Salazar F, López-Jarana P, Ríos-Santos JV, Herrero-Climent M. Review of the Mechanical Behavior of Different Implant-Abutment Connections. *International journal of environmental research and public health* 2020; 17

Wang L, Wang W, Zhao H, Liu Y, Liu J, Bai N. Bioactive Effects of Low-Temperature Argon-Oxygen Plasma on a Titanium Implant Surface. *ACS omega* 2020; 5: 3996–4003

Weber T. *Zahnmedizin*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2016

Weltmann K-D, Kindel E, Woedtke T von, Hähnel M, Stieber M, Brandenburg R. Atmospheric-pressure plasma sources: Prospective tools for plasma medicine. *Pure and Applied Chemistry - PURE APPL CHEM* 2010; 82: 1223–1237

Weltmann K-D, Woedtke T von. Basic requirements for plasma sources in medicine. *The European Physical Journal-Applied Physics* 2011; 55

Weng D, Richter EJ. Die Implantat-Abutment-Verbindung–Vom mechanischen zum biologischen Aspekt des Mikrospalts. *Implantologia* 2005; 13: 125–130

Wheelis SE, Montañó-Figueroa AG, Quevedo-Lopez M, Rodrigues DC. Effects of titanium oxide surface properties on bone-forming and soft tissue-forming cells. *Clinical implant dentistry and related research* 2018; 20: 838–847

Winkler S, Ring K, Ring JD, Boberick KG. Implant screw mechanics and the settling effect: overview. *The Journal of oral implantology* 2003; 29: 242–245

Woedtke T von, Reuter S, Masur K, Weltmann K-D. Plasmas for medicine. *Physics Reports* 2013; 530: 291–320

Woedtke T von, Schmidt A, Bekeschus S, Wende K. Wissenschaftliche Grundlagen, Stand und Perspektiven der Plasmamedizin. In: Metelmann H-R, Woedtke T von, Weltmann K-D, Hrsg. *Plasmamedizin: Kaltplasma in der medizinischen Anwendung*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016: 17–32

Yan D, Cui H, Zhu W, Talbot A, Zhang LG, Sherman JH, Keidar M. The Strong Cell-based Hydrogen Peroxide Generation Triggered by Cold Atmospheric Plasma. *Scientific reports* 2017; 7: 10831

Yang Y, Zheng M, Li J, Su Y-F, Li H-P, Tan J-G. Inhibition of bacterial growth on zirconia abutment with a helium cold atmospheric plasma jet treatment. *Clinical Oral Investigations* 2020; 24: 1465–1477

Zenker M. Argon plasma coagulation. *GMS Krankenhaushygiene interdisziplinär* 2008; 3

Zipprich H, Weigl P, Lange B, Lauer H-C. Erfassung, Ursachen und Folgen von Mikrobewegungen am Implantat-Abutment-Interface. *Implantologie* 2007; 15: 31–46

10 Danksagung

Hiermit möchte ich meiner Doktormutter Frau Priv.-Doz. Dr. med. dent. Pia-Merete Jervøe-Storm, Stellvertretende Klinikdirektorin der Poliklinik für Parodontologie, Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde, Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Universitätszahnklinik Bonn, für ihr stetiges Engagement an der Entwicklung dieser Arbeit, ihre kompetente Betreuung und kollegialen Gespräche danken.

Daneben möchte ich Herrn Priv.-Doz. Dr. med. dent. Benedikt Eggers für die Hilfsbereitschaft, neben seiner anderweitigen Aufgaben, zu jeder Wochenstunde danken. Ohne seine Ideen und Denkanstöße wäre diese Arbeit niemals realisierbar gewesen.

Ebenso danke ich Frau Jana Marcianik, PhD, Msc, sowie Frau Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Marjan Nokhbehaim für die Aufbewahrung der Materialien sowie Bereitstellung der Geräte und spontane Zurverfügungstellung ebendieser.

Darüber hinaus danke ich ZFA Frau Karin Kaltenbach für die Aufbereitung der Implantate.

Ich bedanke mich bei Herrn Wolfgang Falk, Dipl.-Biologe, für die Verwertung und Umsetzung der Versuche in Rohdaten.

Besonders möchte ich Anna danken, die diese Zeit mit all ihren Höhen und Tiefen mit mir bestritten hat und weiter bestreitet. Ohne dich wäre ich im Leben nie so weit gekommen.

Mit Herz und Seele danke ich meinen Eltern Olivera und Riste, meinem Bruder Damjan sowie Annas Familie Christiane, Luisa und Manfred für die mentale Unterstützung, diese Zeit durchzuhalten. Eure Geduld und eure Fürsorge während intensiver Phasen haben mir die nötige Kraft gegeben.

Danke an Frau Dr. med. dent. Eva Schmitt und Frau Dr. med. dent. Lea Schmitt-Hermann, ohne die ich niemals zu dem Zahnarzt geworden wäre, der ich heute bin.

Vielen Dank an Lars, Robert, Sven und Torsten für die jahrzehntelange Freundschaft. Ebenso danke an Constantin, Ilya, Lennart, Michael, Michael, Moritz, Philipp, Yannick für die Freundschaften, die die Studienzeit überdauern.