

# **Is there an association between clinical and SEM quantitative marginal analysis in a 90-month trial?**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med. dent.

an der Medizinischen Fakultät

der Universität Leipzig

eingereicht von: Amelie Brückner geb. Seufert

Geburtsdatum: 17.09.1988

Geburtsort: Schweinfurt

angefertigt an: Universität Leipzig, Poliklinik für Zahnerhaltung und  
Parodontologie

Betreuer: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Rainer Haak, MME  
Dr. rer. nat. Hartmut Schneider

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 14.12.2021

## Inhalt

1. Referat.....	3
2. Einführung in die Thematik.....	4
Grundlagen des Adhäsivverbundes.....	4
Adhäsivsysteme.....	5
Untersuchung des Adhäsivverbundes.....	7
Anforderungen an Testverfahren.....	7
Testverfahren.....	8
Rasterelektronenmikroskopische Analyse des Restaurationsrandes.....	9
Vorhersage des klinischen Erfolgs.....	10
3. Zielsetzung und Hypothesen.....	12
4. Publikation.....	13
5. Zusammenfassung der Arbeit.....	24
6. Literaturverzeichnis.....	28
7. Wissenschaftliche Veröffentlichungen.....	33
Im Rahmen der Promotion.....	33
Im Rahmen der Weiterbildung zur Fachzahnärztin für Oralchirurgie.....	33
8. Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit.....	34
9. Lebenslauf.....	38
10. Danksagung.....	39

## 1. Referat

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwieweit in einer prospektiven klinischen Langzeitstudie bei Frontzahnfüllungen mit zwei Adhäsivsystemen ein Zusammenhang zwischen den klinischen Ergebnissen von Häfer et al.<sup>17</sup> und der Randanalyse mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops (REM) besteht.

35 Patienten erhielten Füllungen der Klasse III und IV mit jeweils beiden Adhäsivsystemen. Entweder wurde das selbstkonditionierende Ein-Schritt Self-Etch Adhäsiv iBond™ Gluma® inside (1-SE) oder das 2-Schritt-Etch-and-Rinse-Adhäsiv Gluma® Comfort® Bond (2-ER) jeweils kombiniert mit dem Feinpartikel-Hybridkomposit Venus® verwendet. Die Restaurationen wurden über 90 Monate klinisch evaluiert (modifizierte USPHS-Kriterien). Anhand von Kunststoffrepliken wurde eine quantitative Randanalyse im REM mit folgenden Kriterien durchgeführt: "Spalt", "Perfekter Rand", "Überschuss" und "Unterschuss". Die Daten wurden statistisch mit Kolmogorov-Smirnov-Test, Wilcoxon-Test sowie mit gemischten Modellen analysiert und mit den klinischen Resultaten in Beziehung gesetzt. Von den 35 Probanden zu Studienbeginn wurden 16 (1-SE) und 17 (2-ER) nach 90 Monaten klinisch erneut untersucht. 13 Patienten wurden aufgrund der ununterbrochenen Dokumentation über 90 Monate oder der ununterbrochenen Dokumentation bis zum Füllungsverlust in die REM-Analyse einbezogen. Die REM-Analyse deckte bei gleichem Trend eine größere Trennschärfe zwischen den Gruppen als die klinische Untersuchung auf. Darüber hinaus waren bei der Randanalyse nach 12 Monaten signifikante Unterschiede zwischen den Materialien feststellbar. Klinisch waren diese ab 12 Monaten als Trend zu vermuten, realisierten sich aber erst nach 48 und 90 Monaten als signifikante Unterschiede. Das Self-Etch Adhäsiv wies signifikant mehr Randanteile mit dem Kriterium „Spalt“ und signifikant weniger Randanteile mit dem Kriterium „Perfekter Rand“ auf als das Etch-and-Rinse Adhäsiv. Bei den Kriterien „Überschuss“ und „Unterschuss“ konnten keine signifikanten Unterschiede belegt werden.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Randanalyse mittels REM klinisch relevante Unterschiede zwischen Adhäsivsystemen frühzeitig aufdecken kann. Die klinische Auswertung und die REM-Randanalyse bestätigen sich bei langen Beobachtungszeiträumen gegenseitig.

## 2. Einführung in die Thematik

### Grundlagen des Adhäsivverbundes

Adhäsiv befestigte Versorgungen sind aus der restaurativen Zahnheilkunde, dank der Möglichkeit defektorientiert, minimalinvasiv und mit hohem ästhetischem Anspruch zu arbeiten, nicht mehr wegzudenken.

Der klinische Erfolg direkter plastischer Restaurationen ist nicht nur von den Eigenschaften des Kompositmaterials abhängig, sondern ebenso von der Qualität und Beständigkeit des adhäsiven Verbundes zwischen Zahn und Komposit. Versagt der Verbund, sind Randspalte zwischen Zahn und Füllung die Folge. In diese Spalte können Nahrungsbestandteile, bakterielle Enzyme sowie Bakterien penetrieren. Das Eindringen solch schädlicher Stoffe in die Randspalten kann zu Randverfärbungen, Plaqueakkumulation, Hypersensitivität und Pulpairritation führen und ein Füllungsversagen begünstigen.<sup>3 8 10 17</sup>

Beim Haftmechanismus von Adhäsivsystemen zu Schmelz und Dentin handelt es sich um einen mikromechanischen Verbund. Dieser resultiert aus einem Austauschprozess. Mineralien werden aus der Zahnhartsubstanz herausgelöst und von Kunststoffmonomeren ersetzt.<sup>9 25 28</sup>

Damit sich Kompositmaterialien dauerhaft mit der Zahnhartsubstanz verbinden, wird diese vor dem Einbringen des Füllungsmaterials, unter absoluter Trockenlegung mittels Kofferdam, konditioniert. Moderne Adhäsivsysteme bestehen aus einem Konditionierer (Säuren, Komplexbildner), einem Primer (hydrophiles Monomer in einem Lösungsmittel) und einem Adhäsiv (verschiedene Monomere). Beim klassischen Drei-Komponenten Etch-and-Rinse System wird der Zahnschmelz mit einer Säure, z.B. Phosphorsäure, Zitronensäure, Salpetersäure oder Maleinsäure für mindestens 30 Sekunden und das Dentin für 15-20 Sekunden angeätzt.

Anschließend muss die Säure ausreichend lange mit einem ölfreien Wasserspray abgespült werden, um die Kalziumphosphatpräzipitate, sowie die durch die Präparation entstandene Schmierschicht, zu entfernen. Der Zahn wird daraufhin sorgfältig getrocknet ohne die Oberfläche auszutrocknen. Die Schmelzätzung führt zu einer besseren Benetzbarkeit der Oberfläche, einer Oberflächenvergrößerung und erzielt ein Mikroretentionsrelief. Bei der Dentinätzung wird die Schmierschicht vollständig entfernt, das Dentin wird demineralisiert und Kollagen wird freigelegt.<sup>22 26</sup>

Adhäsivsysteme werden benötigt um ein hydrophobes Material wie Komposit an einem hydrophilen Substrat wie Dentin zu befestigen. Sie haben die Aufgabe, eine sichere Haftung der Kompositmaterialien an den Zahnhartsubstanzen zu garantieren, eine stabile Randdichtigkeit zu gewährleisten und postoperative Hypersensibilitäten zu vermeiden.<sup>2 19 33</sup>

Das frei gelegte Kollagen und die Dentintubuli werden im Anschluss an die Konditionierung von einem Primer, welcher ein hydrophiles Monomer enthält, durchdrungen, um die Benetzung der feuchten Dentinoberfläche durch ein Adhäsiv zu ermöglichen. Danach wird ein amphiphiles Adhäsiv aufgetragen, welches die Verbindung zwischen den hydrophilen Monomeren des Primers und dem hydrophoben Komposit ermöglicht. Haftvermittler bestehen prinzipiell aus der Formel M-R-X, wobei M eine Methacrylatgruppe, R einen Distanzhalter und X eine funktionelle Gruppe, die mit dem Dentin reagieren soll, bezeichnet.

Bei der Anwendung von Adhäsivsystemen sollte immer darauf geachtet werden, dass dem Präparat genügend Zeit gelassen wird, um das Kollagen des Dentins zu penetrieren und an den geätzten Schmelz anzufließen. Die Adhäsive werden nach dem Einbringen für 10-40 Sekunden lichtgehärtet und es entsteht bei Sauerstoffzutritt an der Oberfläche eine Inhibitionsschicht, in der keine Polymerisation stattfindet. Ist das Haftvermittlersystem zu dünn ausgeblasen, besteht der aufgebrauchte Film fast ausschließlich aus nicht polymerisierten Adhäsivbestandteilen, die keine Haftung ermöglichen.<sup>22</sup> Die neu entstandene Struktur nennt sich Hybridschicht. Eine stabile Hybridschicht zeichnet sich durch ein Kollagennetzwerk aus, welches durch Polymere verstärkt und durchwoben wird. Sie erhöht die Widerstandskraft gegenüber mechanischem Stress.<sup>16 34 41 43 38 39</sup>

## Adhäsivsysteme

In der wissenschaftlichen Literatur sind die Etch-and-Rinse-Adhäsive hinsichtlich eines langfristigen Haftverbunds zahlreich untersucht worden und zeichnen sich in klinischen Studien durch niedrige jährliche Fehlerraten aus.<sup>30 42</sup> Sie unterscheiden sich durch die Anzahl der zu verwendenden Schritte in 4-Schritt-, 3-Schritt- oder 2-Schrittssysteme. Namensgebend für dieses Verfahren ist ein separater Ätzschritt mit Phosphorsäure an der Zahnhartsubstanz, die anschließend gründlich mit reichlich ölfreiem Wasserspray abgespült wird. Nachfolgend werden ein oder zwei Primer

sowie ein Adhäsiv auf die Zahnhartsubstanz aufgetragen. Eine Reduktion der Arbeitsschritte wird durch Kombination der Materialien für die jeweiligen Konditionierungsschritte erreicht, wie zum Beispiel bei der Verwendung von dentinkonditionierenden Primern oder selbstprimenden Adhäsiven.<sup>26</sup> Parallel zu den Etch-and-Rinse Systemen wurden selbstkonditionierende Adhäsive (Self-Etch) als 2-Schritt- oder 1-Schrittssystem entwickelt, die sich durch eine potentiell bessere Benutzerfreundlichkeit, geringere Verarbeitungszeit, niedrigere Techniksensitivität und weniger postoperative Sensitivitäten auszeichnen. 1-Schritt-Adhäsive können weiter unterteilt werden in Zweikomponenten- und Einkomponentensysteme. Die selbstkonditionierenden Einkomponenten-Adhäsive werden als „All-in-One“-Adhäsive bezeichnet, da sie Schritte der Konditionierung sowie des Priming und Bonding kombinieren.<sup>26</sup> Ein Self-Etch System kommt ohne einen separaten Ätzschritt aus, da es saure Monomere enthält, welche gleichzeitig die Zahnhartsubstanz konditionieren und primen ohne abgespült werden zu müssen. Daraus resultiert eine weniger aggressive und damit oberflächlichere Wechselwirkung mit dem Dentin und die Schmierschicht wird nur partiell angelöst.<sup>31,43</sup> Theoretisch können Diskrepanzen zwischen der Tiefe der Demineralisation der Zahnhartsubstanz und der Tiefe der Kunststoffinfiltration mit der Verwendung eines Self-Etch Adhäsivs vermieden werden.<sup>15</sup> Die Mineralien werden aus dem Dentin gelöst und gleichzeitig durch Kunststoffmonomere ersetzt. Durch diesen Prozess werden Hohlräume vermieden und folglich wäre kein Nanoleakage an den Grenzflächen zu erwarten.<sup>4</sup> Mit zunehmender Tiefe werden die sauren Monomere nach und nach durch den mineralischen Gehalt des Zahnes umgesetzt und sind somit nicht mehr im Stande, Dentin weiter zu ätzen.<sup>5</sup> Die tatsächliche Wechselwirkungstiefe sowie die Ätzaggressivität sind pH-Wert abhängig und können in stark ( $\text{pH} \leq 1$ ), mittel stark ( $\text{pH}$  zwischen 1 und 2), mild ( $\text{pH} \approx 2$ ) und ultra mild ( $\text{pH} > 2,5$ ) eingeteilt werden. Durch starke selbstätzende Adhäsive zeigen sich im Dentin typische Entmineralisierungen vergleichbar mit einer Phosphorsäureätzung und im Zahnschmelz kann eine gute Bindungsleistung erreicht werden. Milde und ultra-milde selbstätzende Adhäsive bilden kaum Dentintags und demineralisieren die Schmierschicht nur insoweit, dass diese mit Monomer infiltriert werden kann.<sup>40</sup> Die Self-Etch Adhäsive mit einer milden Ätzwirkung weisen dabei die höheren

langfristigen Haftwerte auf. 2-Schritt-Self-Etch-Adhäsive platzieren sich im direkten Vergleich vor 1-Schritt-Self-Etch Adhäsiven.<sup>30</sup>

## Untersuchung des Adhäsivverbundes

### *Anforderungen an Testverfahren*

Jedes Jahr werden von der Industrie zahlreiche neue zahnärztliche Produkte auf den Markt gebracht. Diese werden zum Beispiel mit der besten Qualität, dem günstigsten Preis, weniger Zeitaufwand für die Verarbeitung, weniger Arbeitsschritten als zuvor, Anwenderfreundlichkeit und Langlebigkeit beworben. Wie realistisch und wahrheitsgetreu diese Werbeversprechen sind kann ein Anwender kaum beurteilen. Um diese Variabilität der Systeme und die unterschiedlichen Hersteller und Produkte vergleichen zu können, bedarf es objektivierbarer und reproduzierbarer Testmethoden.

Testungen dienen der Erkennung und Beurteilung von Randspalten und können sowohl *in vitro* als auch *in vivo* mit unterschiedlichsten Testverfahren vorgenommen werden. *In vitro* Testverfahren sind nützlich um neue Materialien oder Techniken zu untersuchen bevor sie für den klinischen Gebrauch eingesetzt werden. Ein weiterer Vorteil der *in vitro* Testung ist der häufig geringere Zeit- und Kostenaufwand. Die verwendeten Testverfahren sollten möglichst reproduzierbar sein und die Parameter, welche die Ergebnisse beeinflussen, sollten bekannt und kontrolliert sein. Die Variabilität der verglichenen Proben sollte gering sein und bei mehreren getesteten Variablen ist die Anzahl der getesteten Proben zu erhöhen. Wenn neue Apparaturen für ein Testverfahren eingeführt werden, muss getestet werden, ob diese Apparatur für diesen Test geeignet ist. Dies muss geprüft, dokumentiert und die Apparatur kalibriert werden. Die Untersucher sind zu kalibrieren und die Intra- und Interpersonelle Abweichung der Untersuchungsergebnisse ist zu ermitteln. Sind diese Voraussetzungen erfüllt, bezeichnet man die Testung als intern valide. Eignet sich das Verfahren zusätzlich dazu, Informationen oder Prognosen über die klinische Eignung des Materials vorherzusagen, müssen Entsprechungen zu klinischen Befunden vorliegen. Ist dies erfüllt, ist das Testverfahren extern valide.<sup>19</sup>

*In vivo* Testverfahren haben den Vorteil, dass sie unter den tatsächlich herrschenden Bedingungen in der Mundhöhle und den äußeren Einflussfaktoren getestet werden können. Jedoch bestehen Schwierigkeiten, ausreichend viele Probanden zu finden, welche die Voraussetzungen für das Testverfahren erfüllen. Der Zeit- und Kostenaufwand für Nachuntersuchungen ist groß. Die Patienten dazu zu bewegen, an diesen Nachuntersuchungen teilzunehmen, kann schwierig sein. Es bestehen teilweise große interindividuelle Unterschiede bezüglich der versorgten Defektgröße, der Ernährung des Patienten, der Speichelzusammensetzung, der individuellen Mundhygiene, parodontaler Vorerkrankungen oder Fehlbelastungen wie Bruxismus. Um trotz dieser großen Variabilität im Patientenpool aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, sollte die bevorzugte Untersuchungsmethode darin bestehen, jeweils eine Testgruppe und eine Kontrollgruppe im selben Patienten zu platzieren. Zusätzlich sollten die Materialien im gleichen Zahntyp zum Beispiel Prämolaren bei vergleichbarer Kavitätengröße und Lokalisation möglichst auf kontralateraler Seite des Kiefers und zum selben Termin eingebracht werden. Diese hohe Anzahl an Voraussetzungen zu erfüllen verringert häufig die Anzahl der Probanden die in eine Studie einbezogen werden können. Außerdem sollten unterschiedliche Behandler einheitlich und standardisiert die Füllungen legen und bewerten. Sollte eine Replikenherstellung notwendig sein, sollten in einem einheitlichen und standardisierten Arbeitsablauf die Abformungen vorgenommen werden. Die Herstellung der Repliken und deren Vorbereitung auf die Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung sollte durch einen erfahrenen und kalibrierten Untersucher durchgeführt werden. Bei solch einer enormen Variabilität der Voraussetzungen bedarf es großer Unterschiede zwischen den Materialien um signifikante Unterschiede zwischen diesen messen zu können.<sup>23</sup>

### **Testverfahren**

Die am häufigsten eingesetzten *in vitro* Testverfahren bei Adhäsivsystemen sind Haftverbundanalysen wie Zugversuche oder Scherkraftmessungen, da sie methodisch relativ einfach zu konzipieren sind. Dennoch ist ein großer Aufwand nötig, um die Varianz der Testergebnisse zu kontrollieren. Weitere Möglichkeiten sind Penetrationsuntersuchungen mit Farbstoffen, farbstoffproduzierenden



Mikroorganismen oder radioaktiven Isotopen, die Hinweise auf die sogenannte Mikroleakage geben. Teilweise wird versucht, Versuchsaufbauten näher an die klinische Situation zu adaptieren, indem zum Beispiel zusätzliche der Pulpadruk durch Einpressen von Druckluft in die Pulpenkammer simuliert werden.<sup>19</sup> Weitere Möglichkeiten der Analyse bieten die Mikrocomputertomographie,<sup>19</sup> die lichtmikroskopische Beurteilung der marginalen Adaptation und der marginalen Integrität, der internen Zahn-Füllungsadaption<sup>12 14</sup> sowie die quantitative Randanalyse im Rasterelektronenmikroskop<sup>19</sup> oder die optische Kohärenztomographie (OCT).<sup>1 32</sup> Außer diesen Testverfahren, sofern bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung nur die Oberfläche betrachtet und keine Sägeschnitte untersucht werden, sind alle vorgenannten *in vitro* Testverfahren invasiv und/oder sogar destruktiv und die Mikrocomputertomografie birgt das Risiko der ionisierenden Strahlung. Deshalb können ein Großteil dieser Verfahren Verfahren nicht bei *in vivo* Untersuchungen oder für Longitudinalstudien verwendet werden. Außerdem mangelt es an international standardisierten Testprotokollen, sodass abhängig vom testenden Institut für dasselbe Material sehr unterschiedliche Verbundwerte publiziert werden.

*In vivo* kann eine klinische Inspektion mit visuellen und taktilen Kriterien erfolgen (z.B. FDI, USPHS). Darüber hinaus ist von den bereits erwähnten Techniken die Rasterelektronenmikroskopie in Kombination mit einer Replikentechnik<sup>32</sup> zu einer Randbeurteilung von Restaurationen einsetzbar und die optische Kohärenztomografie (OCT) hat sich in jüngster Zeit ebenfalls zur non-invasiven Beurteilung von adhäsiven Restaurationen *in vivo* etabliert.<sup>11 13 36</sup>

### ***Rasterelektronenmikroskopische Analyse des Restaurationsrandes***

Die Randqualität einer adhäsiven Restauration kann licht- und rasterelektronenmikroskopisch untersucht werden. Der Grundgedanke ist, dass Spalte und Unregelmäßigkeiten, die mit dem Mikroskop an der Oberfläche zwischen der Restauration und der Zahnhartsubstanz entdeckt werden, dem Untersucher eine Vorhersage über die klinische Leistungsfähigkeit eines Adhäsivsystems beziehungsweise der verwendeten Restaurationsmaterialien insgesamt oder zum Einfluss von Variationen der Applikationstechnik erlauben.<sup>19</sup>

Um das Rasterelektronenmikroskop zur Auswertung von *In-vivo*-Befunden einzusetzen, müssen Repliken der klinischen Situation erstellt werden. Dieses Verfahren wurde von Roulet 1978 erstmals beschrieben und 1989 publizierte er das Verfahren kombiniert mit einer computergestützten Auswertung erstmals vollständig.<sup>32</sup>

Vorteile der Untersuchung mit dem Rasterelektronenmikroskop und der Replikentechnik bestehen darin, dass Füllungen nach verschiedenen Zeiträumen und Belastungen abgeformt und untersucht werden können. Es können also Longitudinalstudien *in vitro* mit unterschiedlichen Belastungstests sowie *in vivo* nach unterschiedlichen Liegedauern der Füllungen verwirklicht werden.

Die wohl größte Schwierigkeit dieses Verfahrens *in vivo* besteht in der Abformung und Darstellbarkeit der Approximalregion, welche durch erschwerte Erreichbarkeit bei Füllungslegung, Politur, sogar bei der Selbstreinigungsfunktion durch die Zunge, sowie bei der individuellen Mundhygiene, einen sehr interessanten Füllungsabschnitt darstellt. Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, dass vorhandene Spalte durch Debris oder Überschüsse verdeckt werden und dadurch erst zu einem späteren Untersuchungszeitpunkt erkannt werden. Dem wird durch sorgfältige Reinigung der Füllung vor Abdrucknahme sowie der doppelten Anfertigung des Abdruckes, wobei der erste Abdruck verworfen wird, entgegengewirkt. Trotz dieser Schwierigkeiten wird die Untersuchung von Füllungsrandern mit dem Rasterelektronenmikroskop als Goldstandard beschrieben und in vielen *in vitro* und *in vivo* Studien angewendet<sup>7 6</sup>.

### ***Vorhersage des klinischen Erfolgs***

Klinische Untersuchungen, welche neue Komposite und Adhäsivsysteme testen und bewerten sind sehr teuer und zeitaufwändig. Es wäre sehr viel einfacher, wenn klinische Ergebnisse anhand eines oder mehrerer Labortests vorgesagt werden könnten.<sup>19</sup> Obwohl Korrelationen bestehen, ist der klinische Erfolg der Materialien multifaktoriell. Es ist unwahrscheinlich, dass eine exakte Vorhersage auch unter Verwendung verschiedener *In-vitro*-Testmethoden möglich ist.<sup>7,29</sup> Heintze<sup>18</sup> führt die mangelnde Korrelation zwischen Labortests spezifischer Restaurationsmaterialien und klinischen Studien auf die Tatsache zurück, dass die Randdichtigkeit an sich keine spezifische Materialeigenschaft wie die Biegefestigkeit oder der Elastizitätsmodul ist. Tests, die versuchen, die Randdichtigkeit auf

Materialunterschiede zurückzuführen, werden laut Heintze in den meisten Fällen aus folgenden Gründen scheitern: Die Testmethoden sind nur teilweise standardisiert und validiert. Außerdem gibt es viele Faktoren, die das Testergebnis beeinflussen, sowie einige Faktoren, die schwer zu kontrollieren oder zu standardisieren sind. In Bezug auf die marginale Integrität gibt es keine klinisch relevanten Schwellenwerte für die Akzeptanz eines Materials. Daher legen Forscher willkürlich ihre eigene Akzeptanzschwelle fest, was dazu führt, dass viele Materialien im klinischen Umfeld funktionieren, die dies laut den Ergebnissen der Labortests nicht sollten.

Ungeeigneten Studiendesigns, zu kurzen Beobachtungszeiträume und nicht standardisierte und ungeeignete Bewertungskriterien führen zu einer großen Varianz der Ergebnisse. Dies kann zu einer Verzerrung von Korrelationen zwischen klinischen Untersuchungsergebnissen und Laboruntersuchungen führen. Deshalb fordert Heintze, dass nur Labortestmethoden angewendet werden, die einem international anerkannten Standard entsprechen.<sup>18</sup> Auch wenn in bestimmten Versuchsaufbauten an einzelnen Standorten Korrelationen zwischen einzelnen Laborparametern und klinischen Ergebnissen gefunden wurden,<sup>21 42</sup> scheint die ultimative Testmethode, um die Haltbarkeit der Adhäsivsysteme zu bewerten, in der Anwendung von Langzeit in vivo Untersuchungen zu bestehen.<sup>15,27,35,24</sup>

Eine Untersuchungsmethode die sowohl in vitro als auch in vivo angewendet werden kann ist die rasterelektronenmikroskopische Randanalyse, die in vielen Studien als Goldstandard beschrieben wird.<sup>6,7,32</sup> Auch bei dieser Untersuchungsmethode ist die Korrelation der Ergebnisse abhängig vom Versuchsaufbau und sogar vom Universitätsstandort,<sup>20</sup> aber auch vom verwendeten Komposit, dem untersuchten Patientenpool und verschiedenen Behandlern oder Untersuchern. Diese hohe Anzahl an Einflussfaktoren erschwert die Standardisierung und führt zu heterogenen Ergebnissen.<sup>18</sup> Es ist nicht klar, ob diese uneinheitlichen Ergebnisse zwischen klinischem Befund und den Ergebnissen der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung einen Mangel an Korrelation beschreibt oder auf methodische Einflüsse zurückzuführen ist. Deshalb stellte sich die Frage, ob in einer klinischen Langzeitstudie die Verbindung zwischen dem rasterelektronenmikroskopischen Kriterium "marginale Integrität" und dem klinischen Erfolg oder Misserfolg dargestellt werden können, sofern die methodischen Einflussfaktoren durch ein standardisiertes Vorgehen minimiert werden. Dies beinhaltet unter anderem standardisierte

Arbeitsabläufe bei der Füllungslegung durch kalibrierte Behandler, einheitliche Bewertung der Füllungen und standardisierte Abläufe bei der Abdrucknahme, Replikenherstellung und –präparation, Begutachtung und Bewertung der Repliken mit dem Rasterelektronenmikroskop, sowie der Verwendung beider Adhäsive in jedem Patienten um die patientenindividuellen Faktoren zu minimieren. In dieser Studie wurden Füllungen über einen Zeitraum von 90 Monaten klinisch und durch Replikenherstellung auch rasterelektronenmikroskopisch mit Hilfe der quantitativen Randanalyse untersucht. Wie von Heintze<sup>19</sup> gefordert, wurden nicht nur die Ergebnisse dieser Untersuchungen bewertet, sondern auch die Ergebnisse der klinischen Untersuchung mit der REM Randanalyse verglichen.

### 3. Zielsetzung und Hypothesen

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sollten Frontzahnversorgungen aus Komposit, die entweder mit einem Self-Etch- oder einem Etch-and-Rinse-Adhäsivsystem befestigt wurden, über einen Zeitraum von 90 Monaten klinisch und mittels REM-Randanalyse beurteilt werden.

Es wurden folgende Hypothesen formuliert:

- Mit der Randanalyse im Rasterelektronenmikroskop können signifikante Unterschiede zwischen Adhäsivsystemen früher und mit weniger untersuchten Patienten festgestellt werden als bei der klinischen Untersuchung.
- Klinisches Versagen geht mit einer vorhergehenden Spaltbildung einher, die mittels Rasterelektronenmikroskop dargestellt werden kann.
- Klinische Befunde zur marginalen Integrität und Randverfärbung korrelieren mit den Integritätskriterien der Randanalyse im REM.
- Das Ein-Schritt-Self-Etch-Adhäsiv zeigt mehr Spalten in der Randanalyse (und weniger perfekte Ränder) als das Etch-and-Rinse-Adhäsivsystem.

#### 4. Publikation

Rainer Haak\*, Amelie Brückner\*, Matthias Häfer, Markus Scholz, Hartmut Schneider

**Is there an association between clinical and SEM quantitative marginal analysis in a 90-month trial?**

*Journal of Adhesive Dentistry, 2021;23(1):37-46.*

*doi: 10.3290/j.jad.b916821*

*\*These authors contributed equally to this study.*

*Journal Impact Factor (Stand bei Veröffentlichung): 2.379*

*Rang 2019 (Dentistry, Oral Surgery & Medicine): 23/91*

# Is There an Association Between Clinical and SEM Quantitative Marginal Analysis in a 90-month Trial?

Rainer Haak<sup>a\*</sup> / Amelie Brückner<sup>b\*</sup> / Matthias Häfer<sup>c</sup> / Markus Scholz<sup>d</sup> / Hartmut Schneider<sup>e</sup>

**Purpose:** To assess possible correlations between clinical outcomes and SEM marginal analysis in a prospective long-term clinical study using two adhesives in incisors and canines.

**Materials and Methods:** Thirty-five patients received class III and IV restorations with two different adhesives, either the one-step self-etch adhesive iBond Gluma inside (1-SE) or the two-step etch-and-rinse adhesive Gluma Comfort Bond (2-ER) combined with the fine particle hybrid composite Venus. The restorations were clinically evaluated (modified USPHS criteria) over 90 months. Based on resin replicas, a quantitative marginal SEM analysis was performed using the criteria “gap”, “perfect margin”, “overhang”, and “underfilled”. The results of the quantitative marginal analysis were statistically compared and related to clinical evaluations. The SEM data were analyzed statistically using the Kolmogorov-Smirnov test, Wilcoxon test, and mixed models test.

**Results:** Of the 35 subjects at baseline, 16 (1-SE) and 17 (2-ER) were clinically re-examined after 90 months. 13 patients were included in the SEM analysis due to uninterrupted documentation over 90 months or until restoration loss. SEM analysis showed larger discriminative power between groups than did the clinical examination, but the trend was the same. Marginal analysis (“gap”, “perfect margin”) showed significant differences between the materials after 12 months, which clinically began to show a trend from 12 months, and were statistically verified after 48 and 90 months. “Overhang” and “underfilled” did not reveal significant differences between the systems or over time.

**Conclusion:** SEM marginal analysis using the replication technique is a powerful tool to reveal differences between adhesives. Compared to clinical evaluation, group differences can be detected earlier, with both outcome parameters confirming each other over long observation periods.

**Keywords:** adhesion, composite, long term, clinical study, in vivo, SEM, USPHS criteria

*J Adhes Dent* 2021; 23: 37–46.  
doi: 10.3290/j.jad.b916821

Submitted for publication: 02.04.20; accepted for publication: 27.08.20

The clinical durability of composite restorations depends on the reliability of their bonding to hard tooth tissues. The goal is to avoid future leakage, recurrent carious lesions, and pulpal irritation.<sup>22</sup> Recently, durable adhesives have been rapidly developed with increased stability and reduced clinical application time and procedural complexity.<sup>33,43</sup> The adhesion mechanism to enamel and dentin is primarily based on micromechanical retention as a result of an exchange process. Minerals of dental hard tooth tissues

are removed, and resin monomers create an interlocking hybrid layer, which in dentin is characterized by a collagen network infused with and reinforced by polymers.<sup>40,41</sup> Additionally, chemical interactions between functional monomers and calcium ions are important in adhesion to dentin, thus prolonging the intra-oral lifetime.<sup>13,26,42</sup> Microretentive and chemical bonding provide resistance to mechanical stress and hydrolytic degradation, which is relevant for the sealing of restorations.<sup>42</sup>

<sup>a</sup> Professor and Chair, Department of Cariology, Endodontology and Periodontology, University of Leipzig, Germany. Idea, design, supervision of the study, wrote manuscript.

<sup>b</sup> Dentist, private dental practice in Gera, Germany. Performed SEM analysis and contributed to statistical evaluation in partial fulfillment of requirements for a doctoral degree, wrote manuscript.

<sup>c</sup> Assistant Professor, DDS, Department of Cariology, Endodontology and Periodontology, University of Leipzig, Germany. Performed clinical evaluation, contributed to discussion.

<sup>d</sup> Professor, Statistician, Institute for Medical Informatics, Statistics and Epidemiology (IMISE), University of Leipzig, Germany, consulted on statistical evaluation.

<sup>e</sup> Assistant Professor, DSc, Physicist, Department of Cariology, Endodontology and Periodontology, University of Leipzig, Germany. Project coordinator, performed statistical evaluation, proofread manuscript.

\* These authors contributed equally to this work.

**Correspondence:** Dr. Hartmut Schneider, Department of Cariology, Endodontology and Periodontology, University of Leipzig, Liebigstr. 12, 04103 Leipzig, Germany. Tel: +49-341-97-21263; email: Hartmut.schneider@medizin.uni-leipzig.de

The integrity of the tooth-composite interface seems to be the most critical factor for the long-term success of composite fillings.<sup>39</sup> The failure of adhesive bonding, eg, by incomplete hybridization of dentin or the incomplete layering with adhesive, results in gaps between tooth and composite, with the inherent risk of clinical complications such as postoperative sensitivity, marginal discoloration, or carious lesions adjacent to the filling.<sup>25</sup> The scientific assessment of the adhesive bond is, therefore, of particular importance in order to be able to recommend current and new restoratives for clinical use.<sup>2,22,29</sup>

There are several ways to test the effectiveness of adhesives *in vitro* and *in vivo*.<sup>24</sup> *In vitro* tests include bond strength measurements, leakage tests with dye penetration, 3D assessment of restorations by micro-CT,<sup>22</sup> evaluation of marginal integrity, and internal tooth-restoration adaptation<sup>16,18</sup>, for example, via light and scanning electron microscopy (SEM) and quantitative marginal analysis by SEM and optical coherence tomography (OCT).<sup>6,37</sup> Except for the evaluation of marginal integrity by SEM and OCT,<sup>39</sup> all *in vitro* tests are invasive and/or destructive. That is why they cannot be used *in vivo*. *In vivo* tests are performed by clinical inspection according to visual and tactile criteria<sup>25</sup>, and non-destructively by marginal analysis in terms of the replica technique for SEM<sup>37</sup> or OCT.<sup>6,39</sup>

However, it is often criticized that laboratory tests cannot predict the clinical effectiveness of adhesive restorations, and it is concluded that only clinical data can correctly reflect intraoral reality.<sup>22</sup> The demand for more and longer clinical trials is, therefore, self-evident. However, they require considerable effort and, in principle, should run for a very long time because adhesive restorations only fail clinically after long periods of time.<sup>17,43</sup>

Against this background, the question remains whether correlations can be identified between laboratory results and clinical studies. In a meta-analysis, Van Meerbeek et al<sup>45</sup> established a potential relationship between bond strength and clinical outcome in Class V restorations when the restorations were aged in the laboratory and compared to retention rates after five years. A similar tendency was reported by Heintze et al,<sup>24</sup> who found a significant correlation of clinical marginal discoloration and microtensile bond strength in samples stored in water for six months. Since these correlations depended on particular conditions, these relationships cannot be generalized for all test data. The authors concluded that microtensile bond strength tests could be used as a benchmark to improve the effectiveness of adhesives during product development, but that many clinically relevant issues can only be assessed through clinical studies.<sup>20,22</sup>

Another method of investigation, which can be used both *in vitro* and *in vivo*, is marginal analysis using SEM, which is regarded as the gold standard in many studies.<sup>7,10,37</sup> Microscopic imaging of the margins of restorations is expected to correlate with the clinical results. However, it has also been shown that laboratory results are only partially transferable to the clinical situation. Correlations have also been found to depend on the laboratory method or the re-

spective university location.<sup>23</sup> Moreover, the composite material was identified as a relevant influencing factor. Furthermore, potential confounders of clinical trials, such as patient selection, various operators or examiners, etc, which complicate standardization and make the data input more heterogeneous, may influence correlation results.<sup>21</sup>

It remains unclear whether the inconsistent results between clinical parameters and SEM marginal analysis describe a lack of correlation or appear due to other methodological influences. The question arose as to whether a long-running clinical trial could verify the extent to which marginal integrity could be related to clinical failure or clinical success if the methodological influencing factors were minimized by a standardized approach. Among other things, this includes a consistent restoration procedure by calibrated clinical operators and uniform restoration evaluation and impression taking by calibrated investigators of the same clinic, as well as standardized replica fabrication, replica preparation for SEM imaging and image evaluation by a calibrated experienced evaluator. In particular, when using both adhesives in paired samples, the influence of the patient factor should be further minimized. We made use of an ongoing clinical study on restorations bonded with a one-step self-etch (1-SE) as well as a two-step etch-and-rinse adhesive (2-ER) in which modified USPHS criteria were used. Clinical results after 48 months were published in 2013,<sup>19</sup> in which the self-etch adhesive performed less well with respect to the clinical parameters marginal discoloration and marginal integrity.

The observation period was extended to 90 months and impression-based replication of the restoration margins was added over the study period for SEM analysis. Therefore, it was possible to evaluate the same restorations clinically and by quantitative marginal analysis. As demanded by Heintze 2013,<sup>22</sup> not only the results of one testing method were evaluated, but clinical parameters and SEM data of the restoration margins could be compared.

Thus, the purpose of this study was to assess anterior composite restorations over 90 months clinically and by SEM marginal analysis, comparing a self-etch and an etch-and-rinse adhesive. This approach makes it possible to investigate whether the SEM marginal analysis can be used to detect significant results earlier and with fewer subjects included. It was hypothesized that (A) clinical failure is associated with preceding gap formation evaluated by SEM, (B) clinical findings on marginal integrity and discoloration were correlated with the marginal integrity criteria of the SEM analysis, and (C) there is a difference between the two adhesives.

## MATERIALS AND METHODS

### Selection Criteria and Clinical Procedure

Details of the clinical examination have already been described elsewhere<sup>19</sup> so that only the basic methodological information is presented here. After approval by the Ethics Committee of the University of Leipzig, Germany (protocol



**Table 1** Number of subjects included in clinical evaluation BL to 48 months<sup>19</sup> and after 90 months<sup>39</sup> at the time of follow-up and cumulative failure rate (%) of the criteria “marginal integrity” and “marginal discoloration”

Time in months	Cumulative failure rate, %					
	Patients seen clinically		Marginal integrity		Marginal discoloration	
	1-SE	2-ER	1-SE	2-ER	1-SE	2-ER
BL	35	35	0	0	0	0
6	32	32	0	0	0	0
12	33	33	7.1	0	2.4	0
24	31	31	14.3	0	2.7	0
48	24	23	20.0	5.9	6.9**	3.0**
90	16	17	41.8*	7.7*	12.5	16.0

Statistically significant: \*p = 0.011, \*\*p = 0.008. Clinical evaluation: BL (14 days) to 48 months<sup>19</sup> and 90 months<sup>39</sup>. 1-SE: one-step self-etch adhesive, 2-ER: two-step etch-and-rinse adhesive.

number 087/2003), patients aged between 18 and 65 years with the need for Class III or IV fillings were included.

An existing primary carious lesion, a carious lesion adjacent to a restoration, or esthetically unsatisfactory restorations were indications for the restoration. To be included, the teeth had to be asymptomatic and sensitive to CO<sub>2</sub> dry ice. A physiological occlusal relationship with natural dentition was necessary. When the subjects had fewer than 20 teeth or showed signs of bruxism, abfractions, or erosions, they were excluded from this study. Other criteria for exclusions were known allergies to product ingredients, pregnancy or breastfeeding, as well as the abutment of the test teeth to a fixed or removable prosthesis.

The trial compared the clinical performance of the one-step self-etch adhesive iBond Gluma inside (1-SE) with the two-step etch-and-rinse adhesive Gluma Comfort Bond (2-ER) in combination with the microhybrid composite Venus (all products by Heraeus Kulzer; Hanau, Germany). Forty-five Class III/IV restorations with each material were randomly assigned and placed in 35 patients by one of five experienced, calibrated clinical operators from the authors' clinic (Department of Cariology, Endodontology and Periodontology, University of Leipzig). All clinical operators were calibrated prior to the study by placing six Class III or IV restorations in vitro under the supervision of the principal investigator (KM). The assignment of the two adhesives to one of the lesions to be restored per patient was based on a computer-generated list of random numbers. In agreement with the American Dental Association guidelines,<sup>1</sup> a maximum of two restorations per adhesive per participant were placed. When a patient received two restorations of one adhesive, the mean was taken for statistical analysis.

Enamel margins were slightly bevelled with a finishing bur (15 to 25 µm; Intensiv; Grancia, Switzerland). In the case of deep carious lesions or cavities, the dentin was lo-

cally coated with a chemically curing calcium-hydroxide liner (Alkaliner, 3M Oral Care; St Paul, MN, USA) and subsequently covered with a thin layer of glass-ionomer cement (Ketac bond, 3M Oral Care). Rubber-dam was applied to isolate the teeth during operative procedures. Materials were used, as described earlier, strictly according to the manufacturer's instructions.<sup>19</sup>

### Clinical and SEM Evaluation

At the follow-up examinations 14 days (BL) and 6, 12, 24 and 48 months after placement of the restorations, they were cleaned and clinically assessed twice by the respective clinical practitioner and by a second calibrated investigator using the modified USPHS evaluation criteria. The second calibrated investigator was the blinded examiner and had no access to the treatment records of the respective patient or the study documents (simple blind rating). The restorations received an extra polishing at the 12-month follow-up upon patient request after the impressions were taken. These restorations were observed throughout further follow-up examinations.<sup>25</sup> The additional 90-month follow-up examination was performed by one of the above-mentioned clinical operators (MH), including 16 (1-SE) and 17 (2-ER) patients, with allocation concealment of impressions for the replica technique by an uninvolved person.

Impressions were taken with the double impression technique using the polyvinyl siloxane material Conturprint Duo (Kaniedenta, Herford; Germany) as well as the polyvinyl siloxane Coltene President putty soft (Coltene/Whaledent; Altstätten; Switzerland), both with their light-body impression materials Conturprint Duo light (Kaniedenta) and President plus light body (Coltene/Whaledent). A similar outcome of the replica marginal criteria with either Conturprint Duo or Coltene President was tested internally for significant differences (there were none) before the change of the



**Table 2** Comparison of clinical results and quantitative marginal analysis (SEM, mean values) including patients with uninterrupted documentation over 90 months or until restoration loss

Time in months			BL				6			
iBond (1-SE)	Clinic	Clinical score	A	AB*	B	CD**	A	AB	B	C/D
		Number of patients 'marginal integrity'	13	0	0	0	7	1	5	0
		Number of patients 'marginal discoloration'	12	0	1	0	2	3	8	0
	SEM, %	Gap	3.4 <sup>A,B,C</sup>				5.2 <sup>D</sup>			
		Perfect margin	62.2 <sup>H,I</sup>				55.5 <sup>K</sup>			
Gluma Comfort Bond (2-E&R)	Clinic	Clinical score	A	AB	B	C/D	A	AB	B	C/D
		Number of patients 'marginal integrity'	13	0	0	0	12	0	1	0
		Number of patients 'marginal discoloration'	13	0	0	0	11	1	1	0
	SEM, %	Gap	3.5				4.0			
		Perfect margin	70.1 <sup>O,P</sup>				63.2			
<p>*Three of 13 patients received two restorations of each material. When scoring of USPHS criteria differed for example one filling was rated A the other B in this table they were scored AB (simultaneously BC). **When a restoration was scored as clinically insufficient, it was scored as C or D (C/D). A,B,C,D,G,H,I,K,O,P: pairs of identical letters mark significantly different values; <sup>e,i,j,n</sup>: trend is present.</p>										

impression materials. Replicas with epoxy resin (Stycast 1266 A/B, Emerson& Cuming; Westerlo, Belgium) were produced under controlled conditions to eliminate the formation of bubbles and deformations of the castings. They were mounted on metal stubs (Leit C, Neubauer Chemikalien; Münster, Germany; Sample Holder G400, Plano; Wetzlar, Germany) and sputtered with 20-nm gold (Edwards Sputter Coater S 150B, BOC Edwards; Burgess Hill, UK). Replicas were examined at 200X magnification with an SEM (G2 Phenom Pro, Phenom-World BV; Eindhoven, the Netherlands). For quantitative marginal analysis, the single images of the enamel-composite interface were stitched with Fiji (S. Preibisch, BIMSB of the MDC; Berlin, Germany) and measured with jQuantGap (K.-H. Kunzelmann, Ludwig Maximilians University; Munich, Germany). At the margins, the length of gaps, perfect margins, overhangs, and underfilled areas were measured metrically and related to the total length (%) in order to quantify these criteria of marginal quality. Inclusion criteria for the SEM evaluation were an uninterrupted reassessment of the patients for 90 months of follow-up or continuous reassessment until the restorations were rated as clinically insufficient with USPHS criteria C or D at prior follow-ups. Applying these criteria, it was possible to include a maximum of 13 patients in the SEM evaluation at BL. At the 90-month reassessment, 11 patients were left for examination. The replicas were renamed for blinded analysis. After measurement, the blinding was uncovered for statistical analysis. Statistics were calculated for all four parameters. As "overhang" and "un-

derfilled" did not show significant differences between the two materials or over time, the parameters "perfect margin" and "gap" were presented in this article based on Blunck and Zaslansky.<sup>5</sup>

The intrapersonal reproducibility of the examiner was evaluated in a preliminary test. Six randomly selected composite restorations (three per adhesive) were assessed three times at one-week intervals. The mean percentages ( $\pm$ SD) of marginal criteria were determined. The maximum deviation of the criteria "perfect margin" and "gap" was 4.0%.

### Statistical Analysis

The clinical results were compared descriptively with those of the quantitative marginal analysis, involving the 13 to 11 patients with continuous documentation over 90 months or until rated clinically insufficient.

The values for "gap" and "perfect margin" were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test. The nonparametric Wilcoxon test was used to compare the two materials at each follow-up and to longitudinally compare perfect margin and gap between the follow-up times for each adhesive. The program used was SPSS 15.0 for Windows (IBM SPSS Statistics; Chicago, IL, USA). Differences between the adhesives were calculated over the observation period from baseline to the 90-month follow-up by linear mixed model analysis. In this, time was treated as factor, while data of the same patient were modelled by random intercepts. The package "lmer" of the statistical software package "R" (Vienna, Austria) was used for this

12				24				48				90				
A	AB	B	C/D	A	AB	B	C/D	A	AB	B	C/D	A	AB	B	BC*	C/D
5	2	6	0	4	2	7	0	4	1	6	2	3	0	6	1	1
3	2	8	0	3	0	10	0	3	2	8	0	1	0	9	0	1
9.2 <sup>A,e</sup>				6.2				10.8 <sup>B,G</sup>				17.0 <sup>C,D,e,G</sup>				
47.7 <sup>H,I</sup>				51.4				53.3 <sup>J</sup>				57.0 <sup>I,K</sup>				
A	AB	B	C/D	A	AB	B	C/D	A	AB	B	C/D	A	AB	B	BC	C/D
10	1	2	0	10	2	0	1	7	1	3	1	3	2	6	0	0
11	1	1	0	11	1	1	0	10	0	2	0	4	2	5	0	0
3.9				4.0				4.8 <sup>n</sup>				10.0 <sup>n</sup>				
56.1 <sup>o</sup>				59.1 <sup>p</sup>				58.7				59.7				

analysis. If more than one restoration of each material was available in one patient, the mean value of the two restorations was used for further calculation. A significance level of  $\alpha = 0.05$  with two-tailed testing was chosen for all tests. *p*-values from 0.05 to 0.08 were assessed as a trend.

## RESULTS

### Clinical Assessment

The number of subjects seen at recall appointments and cumulative failure rates (CFR) for each adhesive according to the clinical criteria marginal discoloration (MD), and marginal integrity (MI) are summarized in Table 1 from baseline to 90 months. At BL, all 35 patients returned for reassessment. This number decreased up to 90 months down to 16 patients in the 1-SE (recall response 57.1%) and 17 patients in the 2-ER group (recall response 58.6%). Reasons to exclude restorations from further clinical examination within the 90 months were root canal treatment on the tooth involved (2/45)<sub>2-ER</sub>, crown fracture (1/45)<sub>2-ER</sub>, crowning (1/45)<sub>2-ER</sub>, and unacceptable restorations according to USPHS-Code C and D for the criteria marginal integrity (7/45)<sub>1-SE</sub>, (2/45)<sub>2-ER</sub>, marginal discoloration (3/45)<sub>1-SE</sub>, (1/45)<sub>2-ER</sub>, or color match (1/45)<sub>1-SE</sub>, as well as non-attendance at the follow-up examination. After clinical assessment and impression taking, unacceptable restorations according to USPHS-Code C and D were repaired or replaced and excluded for further evaluation.

In the self-etch group, the cumulative failure rate for marginal integrity (CFR<sub>MI</sub>), which resulted from clinically unacceptable quality, was 7.1% at the 12-month reassessment and increased up to 41.8% at 90 months, compared with marginal integrity failures of the etch-and-rinse group which started at 48 months with 5.9% and increased up to 7.7% at 90 months (Table 1). At 90 months, CFR<sub>MI</sub> was significantly lower in the etch-and-rinse group compared to the self-etch group. The first sign of marginal discoloration was seen in the self-etch group already at 12 months (2.4%) and increased up to 12.5% after 90 months (CFR<sub>MD</sub>). In the etch-and-rinse group, marginal discoloration was first detected after 48 months (3.0%) and increased up to 16.0% at 90 months. The difference in CFR<sub>MD</sub> was significant at 48 months, and was lower in the etch-and-rinse group compared to the self-etch group.

### SEM Analysis

The results of the clinical evaluation of the 13 to 11 patients were compared to SEM results of the same patients (Table 2). Among the USPHS criteria, especially "marginal integrity" and "marginal discoloration" were chosen because of the assumed connection to marginal quality.<sup>39</sup>

During the observation period, both adhesives showed significant alterations in the marginal quality of the restorations (Table 2 and 3). The 1-SE adhesive showed a significant increase or a trend in gap formation (Fig 1) at 90 months compared to BL, 6, 12, and 48 months. Additionally, an increase from BL to 12 months as well as BL to

**Table 3** SEM criteria “perfect margin” and “gap” at the times of follow-up compared to baseline (p-values)

Time in months	Perfect margin		Gap	
	1-SE	2-ER	1-SE	2-ER
BL-6	0.23	0.168	0.556	0.850
BL-12	<b>&lt; 0.001</b>	<b>0.002</b>	<b>0.021</b>	0.987
BL-24	0.216	<b>0.013</b>	0.204	0.791
BL-48	0.210	0.168	<b>0.006</b>	0.879
BL-90	<b>0.002</b>	0.110	<b>0.005</b>	0.146

BL: baseline (14 days). 1-SE: one-step self-etch adhesive; 2-ER: two-step etch-and-rinse adhesive.

48 months was quantifiable. A decline of the “perfect margin” percentage from BL to 12 months and BL to 90 months, as well as an increase from 6 to 90 months and from 12 to 48 months (Fig 2, Table 3) was observed. In the 2-ER group, an increase in the criterion “gap” was seen at 90 months compared to all previous examinations, statistically verified as a trend compared to 48 months. Additionally, a significant decline in the percentage of “perfect margin” was detected from BL to 12 and BL to 24 months (Tables 2 and 3).

Comparing the two adhesives, the 1-SE adhesive showed a lower percentage of the criterion “perfect margin” than did the 2-ER adhesive after 12 and 90 months (Table 4). A higher percentage of the criterion “gap” was seen in the 1-SE group after 12 (trend), 48, and 90 months (Table 4). For both parameters, equal outcomes and ratios were revealed with the mixed model analysis (Table 5).

The results of the clinical parameters “marginal integrity” and “marginal discoloration” (descriptive assessment) as well as SEM examination are also shown in Table 2. According to the inclusion criteria, 13 patients could be examined in 1-SE group at BL to 48 months, and 11 patients were examined at the 90-month recall appointment. Three of 13 patients received two restorations per adhesive. If there were different ratings of the two restorations of the same adhesive in the same patient according to USPHS criteria, the adhesives were scored either AB or BC. Clinically insufficient fillings were rated with C or D (C/D). At BL, all subjects were clinically rated A for marginal integrity, and almost all – with one exception (B) – were rated A for marginal discoloration. Beginning with six months, the number of patients with A scores for both criteria decreased, while those with a score of B increased. At 48 months, the restorations of two patients were excluded from further examination because of a D rating for marginal integrity. At 90 months, another two restorations were rated C, and another C rating for marginal discoloration was given.

The SEM measurements of these restorations were related to their clinical outcomes. The 1-SE adhesive started with 62.2% of perfect margin at BL, which decreased until 12 months. At this time, some restorations received an

extra polishing on the patient’s request, resulting in an increase of perfect margins at 24 and 48 months. Another increase at 90 months was related to the exclusion of two insufficient restorations at 48 months because of a D rating for marginal integrity. The opposite was the case for the criterion “gap”. Starting with 3.4% at BL, it increased up to 17.0% at 90 months. In the 2-ER adhesive group, all subjects were clinically rated A at BL. A continuous but slow deterioration was observed over the study period. The proportion of perfect margins in the SEM analysis decreased from 70.1% at BL to 59.7% at 90 months, whereas the proportion of gaps increased from 3.5% at BL to 10.0% at 90 months.

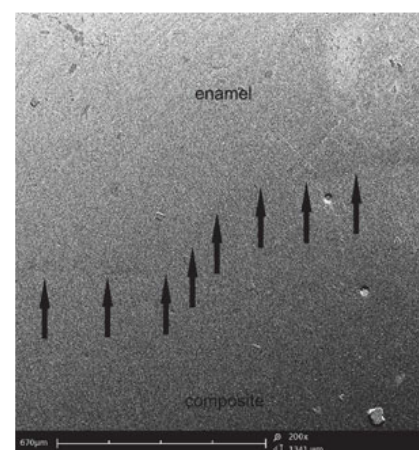
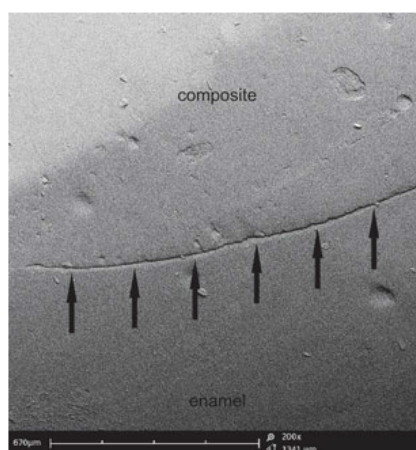
No statistically significant influence of the five clinical operators who placed the restorations was detected after 90 months (clinical:  $p_i > 0.09$ ; SEM:  $p_i > 0.76$ ).

## DISCUSSION

The integrity of the tooth-composite interface of adhesive restorations is crucial for long-term clinical success. However, relevant changes and differences between adhesives in terms of marginal integrity can only be identified clinically after long observation times.<sup>28</sup> Although a tendency starting at 12 months was obvious,<sup>19</sup> in this clinical study, a statistically significant difference between the two adhesives was found for the first time only after 48 months (marginal integrity, marginal discoloration)<sup>19</sup> or at 90 months (marginal integrity)<sup>39</sup>. In contrast, by including the SEM marginal analysis, the differences between the adhesives became obvious after 12 months already (Tables 2–4). Hypothesis A can therefore be accepted. The less favorable clinical outcome of the one-step self-etch adhesive iBond Gluma inside compared to the two-step etch-and-rinse adhesive Gluma Comfort Bond was associated with its worse marginal integrity as shown by SEM analysis (hypotheses B and C). Furthermore, the system differences were demonstrable with fewer subjects, illustrating the higher discriminative power of SEM analysis. Although the study designs

**Fig 1** SEM image (200X) of a gap (arrows) between enamel and composite.

**Fig 2** SEM image (200X) of a perfect margin. The border (arrows) between enamel and composite is barely detectable.



differ significantly, the results of the present study do not contradict the results of previous studies in which iBond also performed clinically below the average.<sup>32,34,36</sup> Today, many materials used in adhesive restorative techniques have very similar material properties and resulting clinical performance. As a result, in clinical trials on new restoration materials and adhesives as well as restoration techniques, only minor group differences can be assumed. Long observation times and/or more subjects are required to reveal the system differences, which would in turn be associated with higher costs for these investigations. In addition, over-long observation periods prevent better-performing adhesives from being selected under clinical conditions, because the development of new adhesives would proceed faster than the state of clinical knowledge.

It is interesting to be able to show even small differences between experimental groups, for example, when the goal is to further develop materials step by step, or to be able to make meaningful differentiation even with small case numbers and short observation times *in vivo*. With all these questions, it would be easier if we could use laboratory tests to make valid predictions of clinical outcomes.<sup>22</sup> However, it has been shown time and again that the clinical success of materials is difficult to predict accurately in the lab, even with different *in vitro* test methods.<sup>9,10</sup>

Long-term observations of clinical use still best describe the occurrence of the many and varied influencing factors.<sup>10,35</sup> This clinical study also included a variety of clinical conditions, such as different operators, cavity design with tooth preparation corresponding to the previous defect, and different intraoral locations of the restorations due to the typical diversity in the group of subjects. Other patient-related parameters are age, individual oral hygiene, occlusal load, saliva composition, or caries activity.<sup>3,21,44</sup> With regard to the parameters location (maxilla/mandible), cavity class (III/IV), primary treatment (yes/no), lesion borderline (enamel/dentin/mixed), lesion depth (shallow/medium/

deep), as well as subbase and base (yes/no), the distribution between the two groups was balanced.<sup>19</sup> No secondary caries appeared up to 90 months. The considerable variability of these clinical parameters points to the necessity of regularly measuring clinically relevant differences in clinical outcomes between the groups in order to determine significant differences between materials or methods. Therefore, it is clear that the demand for studies that run for years and decades can also become a hindrance to the continuous development of materials and application techniques.

A relevant limitation of the clinical evaluation parameters results from the primarily qualitative clinical evaluation of the restorations, so that it might be worth considering the introduction of more sensitive, quantitative evaluation criteria. This demand for a metric analysis can be met by quantitative marginal analysis. In parallel with the use of these metric criteria, this study demonstrated that SEM analysis provides more sensitive parameters to find differences between study groups for adhesive restorations.

The replica technique provides the advantage of allowing the observation and comparison of nearly the same marginal segments of the same restorations after different types of storage or loading in a non-destructive way.<sup>21</sup> In order to reliably resolve effects (group differences) over time in *in vivo* studies, continuous assessment of the restorations over time is mandatory. This was an inclusion criterion in this study. Despite the positive selection bias after 90 months, with only a few subjects and restorations left, quantitative marginal analysis allowed differentiation between the two adhesives starting with the 12-month evaluation. In contrast, the clinical study required 35 subjects to detect a difference in marginal discoloration after 48 months and a difference in marginal integrity after 90 months with 16/17 subjects.

The demonstrated transferability of SEM analysis results to clinical performance in this study is in partial contrast to the established view that the clinical success of restora-



**Table 4** Wilcoxon test between one-step self-etch adhesive iBond Gluma inside (1-SE) and the two-step etch-and-rinse adhesive Gluma Comfort Bond (2-ER) from baseline to 90 months for the SEM criteria “perfect margin” and “gap”

Criterion	Tendency	Time in months	p-value
Perfect margin	1-SE < 2-ER	BL	0.345
		6	0.463
		12	<b>0.050</b>
		24	0.650
		48	0.263
		90	<b>0.046</b>
Gap	1-SE > 2-ER	BL	0.624
		6	0.807
		12	<b>0.054</b>
		24	0.263
		48	<b>0.008</b>
		90	<b>0.023</b>

tions cannot be expressed in percentages of “perfect margin” or “gap”.<sup>10,21</sup> This assumption seems to be valid for in vitro results.<sup>21,37</sup> But when SEM analysis based on replicas is used clinically according to an integrated standardized approach that includes the restoration procedure, the clinical assessment of restoration and impression taking, as well as standardized replica fabrication and preparation for SEM imaging and image analysis, a clear relationship between the assessment of marginal quality in SEM and clinical success can be established. This is especially true when the patient factor can be minimized by applying of the two adhesives to the same patient in paired restorations, as was done in the present study.

However, when using the replica technique for clinical evaluation, the limitation of this evaluation method is that proximal areas or undercuts are often only partially represented by the impression technique.<sup>27</sup> On the one hand, this leads to a loss of information; on the other hand, the displayed marginal lengths, and thus the evaluable measured values, can vary in a longitudinal examination. Furthermore and analogous to the visual evaluation, a gap can be hidden by an overhang, so that this remains invisible or is only detected later. Moreover, it is important to consider the criteria used in the analysis. Based on the fundamental work of Roulet et al,<sup>37</sup> the tooth-restoration interface has been classified by four criteria: “perfect margin”, “overhang”, “underfilled”, and “gap”. This classification has been modified several times depending on the purpose of the study, eg “margin not or hardly visible, no or slight marginal irregularities”<sup>4</sup> or additionally “gap visible” and “severe gap”<sup>5</sup>. Another example is using just the criterion “gap-free margin”<sup>11</sup> or in addition “gap/irregularity”<sup>12</sup> or using

“gap”, “not assessable/artefact” and “gap-free”<sup>10</sup> to describe margins. In this study statistical calculation was based on the criteria “perfect margin” and “gap”. Although the results of the clinical and SEM analysis for the criteria “perfect margin” and “gap” tended to conform inversely, “gap” was the more resilient parameter with regard to the differentiation of the two types of adhesives. The restorations with the unfavorable clinical ratings C or D did not necessarily show a particularly low percentage of perfect margin at the same time. This confirms the results of a cross-sectional study by Schneider et al, who also found that restorations rated C or D for clinical marginal integrity or marginal discoloration could not be identified in the SEM as those with the lowest percentage of perfect margin.<sup>39</sup> Therefore, the criterion “gap” should be used as the main parameter of quantitative marginal analysis for clinical success, as fewer factors interfere with it than the criterion “perfect margin”<sup>14</sup>, and leads to a more standardized evaluation. To standardize the evaluation, it is also essential that, as in this study, a calibrated examiner analyze all samples.

One of the first problems of tooth-colored restorations to become clinically apparent is marginal discoloration, which includes any discrepancy between the tooth color and the restorative or adhesive.<sup>30</sup> It is commonly associated with irregularities at the margin<sup>35</sup> or composite resin that overextends the cavity margins onto unconditioned tooth substrate. Opdam et al<sup>31</sup> reported that Class II resin composite restorations placed in vivo are frequently found to have overextended cervical margins (43%). This clinical criterion cannot be represented analogously in an SEM. Since marginal discoloration is often an early esthetic problem of adhesive restorations, in this study, restorations were additionally polished and excess was removed after twelve months if the patient requested it. Prior to this, the impression for replication was taken. This procedure corresponds to that described by Hickel et al and does not cause further problems in the calibrated evaluation process.<sup>25</sup> Nevertheless, this should be considered as a limitation of SEM analysis, as this post-processing changes the results after the 12-month assessment. When interpreting this, it should be taken into account that there may be an improvement in both the clinical and SEM marginal quality at the subsequent examination date.<sup>8</sup>

Overall, it can be stated that quantitative marginal analysis can be used to generate additional information in clinical studies, which allows a reduction in the number of cases and the observation period. However, SEM analysis always means that further preparative work, SEM imaging, and evaluation of replicas are necessary in addition to the clinical examination, which results in a double evaluation effort. Furthermore, SEM analysis is also limited by the fact that it only provides a surface finding of the cavity margin, and an evaluation of the entire composite-tooth interface is not possible.<sup>15</sup> Future research should therefore also address the question of how the clinical parameters and SEM assessment correlate with the bonding situation of the entire interface.

**Table 5** Linear mixed model analysis of time series (baseline to 90 months) of the two criteria “gap” and “perfect margin”. Time was treated as a factor and the two adhesives were compared over all times of follow-up.

Criterion	Tendency	p-value
Perfect margin	1-SE < 2-ER	0.003
Gap	1-SE > 2-ER	< 0.001
1-SE: one-step self-etch adhesive; 2-ER: two-step etch-and-rinse adhesive.		

## CONCLUSIONS

Quantitative marginal analysis with the replica technique and SEM was able to detect differences between adhesives – which first became clinically apparent after 48 months – after only 12 months and with fewer subjects. Both clinical and SEM criteria confirmed each other over long observation times. SEM marginal analysis can serve as a tool for early detection of clinically relevant differences in the performance between adhesives. In class-III and IV-restorations, the 1-step self-etch adhesive did not clinically perform as well as a 2-step etch-and-rinse approach after 90 months.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Kulzer GmbH for sponsoring the first part of the clinical study.

## REFERENCES

- ADA Council on Scientific Affairs. American Dental Association acceptance program guidelines: composite resins for posterior restorations, 2001:1–12.
- Akimoto N, Takamizu M, Momoi Y. 10-year clinical evaluation of a self-etching adhesive system. *Oper Dent* 2007;32:3–10.
- Bayne SC, Heymann HO, Sturdevant JR, Wilder AD, Sluder TB. Contributing co-variables in clinical trials. *Am J Dent* 1991;4:247–250.
- Blunck U. Effectiveness of all-in-one adhesive systems tested by thermocycling following short and long-term water storage. *J Adhes Dent* 2007;9:231–240.
- Blunck U, Zaslansky P. Enamel margin integrity of class I one-bottle all-in-one adhesive-based restorations. *J Adhes Dent* 2011;13:23–29.
- Bortolotto T, Bahillo J, Richoz O, Hafezi F, Krejci I. Failure analysis of adhesive restorations with SEM and OCT: from marginal gaps to restoration loss. *Clin Oral Investig* 2015;19:1881–1890.
- Ernst C, Galler P, Willershausen B, Haller B. Marginal integrity of class V restorations: SEM versus dye penetration. *Dent Mater* 2008;24:319–327.
- Estay J, Martín J, Vildosola P, Mjör IA, Oliveira OB, Andrade MF, Moncada G, Gordan VV, Fernández E. Effect of refurbishing amalgam and resin composite restorations after 12 years: Controlled clinical trial. *Oper Dent* 2017;42:587–595.
- Ferracane JL. Resin-based composite performance: Are there some things we can't predict? *Dent Mater* 2013;29:51–58.
- Frankenberger R, Krämer N, Lohbauer U, Nikolaenko SA, Reich SM. Marginal integrity: is the clinical performance of bonded restorations predictable in vitro? *J Adhes Dent* 2007;9:107–116.
- Frankenberger R, Krämer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper Dent* 2000;25:324–330.
- Frankenberger R, Tay FR. Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: Effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dent Mater* 2005;21:397–412.
- Fu B, Sun X, Qian W, Shen Y, Chen R, Hannig M. Evidence of chemical bonding to hydroxyapatite by phosphoric acid esters. *Biomaterials* 2005;26:5104–5110.
- Gaengler P, Hoyer I, Montag R, Gaebler P. Micromorphological evaluation of posterior composite restorations – a 10-year report. *J Oral Rehabil* 2004;31:991–1000.
- Haak R, Hähnel M, Schneider H, Rosolowski M, Park KJ, Ziebolz D, Häfer M. Clinical and OCT outcomes of a universal adhesive in a randomized clinical trial after 12 months. *J Dent* 2019;90:103200.
- Haak R, Näke T, Park KJ, Ziebolz D, Krause F, Schneider H. Internal and marginal adaptation of high-viscosity bulk-fill composites in class II cavities placed with different adhesive strategies. *Odontology* 2019;107:374–382.
- Haak R, Schmidt P, Park KJ, Häfer M, Krause F, Ziebolz D, Schneider H. OCT for early quality evaluation of tooth-composite bond in clinical trials. *J Dent* 2018;76:46–51.
- Haak R, Wicht MJ, Noack MJ. Marginal and internal adaptation of extended class I restorations lined with flowable composites. *J Dent* 2003;31:231–239.
- Häfer M, Schneider H, Rupf S, Busch I, Fuchß A, Merte I, Jentsch H, Haak R, Merte K. Experimental and clinical evaluation of a self-etching and an etch-and-rinse adhesive system. *J Adhes Dent* 2013;15:275–286.
- Heintze SD, Rousson V. Pooling of dentin microtensile bond strength data improves clinical correlation. *J Adhes Dent* 2011;13:107–110.
- Heintze SD. Systematic reviews: I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II The correlation between marginal quality and clinical outcome. *J Adhes Dent* 2007;9:77–106.
- Heintze SD. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. *Dent Mater* 2013;29:59–84.
- Heintze SD, Blunck U, Göhring TN, Rousson V. Marginal adaptation in vitro and clinical outcome of Class V restorations. *Dent Mater* 2009;25:605–620.
- Heintze SD, Thunpithayakul C, Armstrong SR, Rousson V. Correlation between microtensile bond strength data and clinical outcome of Class V restorations. *Dent Mater* 2011;27:114–125.
- Hickel R, Roulet JF, Bayne S, Heintze SD, Mjör IA, Peters M, Rousson V, Randall R, Schmalz G, Tyas M, Vanherle G. Recommendations for conducting controlled clinical studies of dental restorative materials. *Clin Oral Invest* 2007;11:5–33.
- Inoue S, Koshiro K, Yoshida Y, de Munck J, Nagakane K, Suzuki, Sano H, Van Meerbeek B. Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2005;84:1160–1164.
- Krämer N, Küssner P, Motmaen I, Köhl M, Wöstmann B, Frankenberger R. Marginal quality and wear of extended posterior resin composite restorations: Eight-year results in vivo. *J Mech Behav Biomed Mater* 2015;50:13–22.
- Krämer N, Reinelt C, Frankenberger R. Ten-year clinical performance of posterior resin composite restorations. *J Adhes Dent* 2015;17:433–441.
- Liu Y, Tjaderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, Pashley DH, Tay FR. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res* 2011;90:953–968.
- Mjör IA. The reasons for replacement and the age of failed restorations in general dental practice. *Acta Odontol Scand* 2009;55:58–63.
- Opdam NJM, Roeters FJM, Feilzer AJ, Smale I. A radiographic and scanning electron microscopic study of approximal margins of Class II resin composite restorations placed in vivo. *J Dent* 1998;26:319–327.

32. Perdigão J, Dutra-Corrêa M, Anauate-Netto C, Castilhos N, Carmo AR, Lewgoy HR, Amore R, Cordeiro HJ. Two year clinical evaluation of self-etching adhesives in posterior restorations. *J Adhes Dent* 2009;11:149–159.
33. Peumans M, de Munck J, van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Five-year clinical effectiveness of a two-step self-etching adhesive. *J Adhes Dent* 2007;9:7–10.
34. Peumans M, de Munck J, Mine A, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives for the restoration of non-carious cervical lesions. A systematic review. *Dent Mater* 2014;30:1089–1103.
35. Peumans M, de Munck J, van Landuyt KL, Poitevin A, Lambrecht P, Van Meerbeek B. Eight-year clinical evaluation of a 2-step self-etch adhesive with and without selective enamel etching. *Dent Mater* 2010;26:1176–1184.
36. Reis A, Leite TM, Matte K, Michels R, Amaral RC, Geraldini S, Loguercio AD. Improving clinical retention of one-step self-etching adhesive systems with an additional hydrophobic adhesive layer. *J Am Dent Assoc* 2009;140:877–885.
37. Roulet JF, Reich T, Blunck U, Noack M. Quantitative margin analysis in the scanning electron microscope. *Scanning Microsc* 1989;3:147–159.
38. Schneider H, Park KJ, Häfer M, Rüger C, Schmalz G, Krause F, Schmidt J, Ziebolz D, Haak R. Dental applications of optical coherence tomography (OCT) in cariology. *Applied Sci* 2017;7:472.
39. Schneider H, Steigerwald-Otremba AS, Häfer M, Krause F, Scholz M, Haak R. Is optical coherence tomography a potential tool to evaluate marginal adaptation of class III/IV composite restorations in vivo? *Oper Dent* 2019;44:242–253.
40. Singh V, Misra A, Parthasarathy R, Ye Q, Spencer P. Viscoelastic properties of collagen-adhesive composites under water-saturated and dry conditions. *J Biomed Mater Res* 2015;103:646–657.
41. Spencer P, Ye Q, Misra A, Goncalves SE, Laurence JS. Proteins, pathogens, and failure at the composite-tooth interface. *J Dent Res* 2014; 93:1243–1249.
42. Van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, Snauwaert J, de Munck J, Okazaki M, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *J Dent Res* 2008;87:757–761.
43. Van Meerbeek B, de Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003;28:215–235.
44. Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent* 1998;26:1–20.
45. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, van Ende A, Neves A, de Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater* 2010;26:e100–121.

**Clinical relevance:** When developing and testing new materials, marginal analysis with SEM can be used in a calibrated workflow in vivo to find differences between materials at an early stage or even with fewer subjects.

## 5. Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med. dent.

*Is there an association between clinical and SEM quantitative marginal analysis in a 90-month trial?*

eingereicht von Amelie Brückner geb. Seufert

angefertigt an: Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie,  
Universitätsklinikum Leipzig

betreut von: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Rainer Haak, MME  
Dr. rer. nat. Hartmut Schneider

eingereicht am:

---

Adhäsivsysteme gibt es mit unterschiedlichsten Zusammensetzungen und sie benötigen unterschiedlich viele Arbeitsschritte. Um aus der Vielfalt der angebotenen Materialien langlebige und wenig techniksensitive Produkte herauszufiltern, bedarf es objektivierbarer und reproduzierbarer Testmethoden. Klinisch sind hierzu in der Regel sehr lange Beobachtungszeiten notwendig, so dass kontinuierlich nach sensitiveren Untersuchungsverfahren gesucht wird, die eine frühzeitigere Differenzierung verschiedener Systeme ermöglichen.

In dieser Arbeit wurde daher auf Basis einer randomisierten klinischen Langzeitstudie (RCT) die Randanalyse mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) als Auswertmethodik mit der klinischen Erfolgsbeurteilung in Beziehung gesetzt. Hierzu wurde ein Self-Etch Adhäsivsystem (1-SE) mit einem Etch-and-Rinse Adhäsivsystem (2-ER) jeweils in Verbindung mit dem Hybridkomposit Venus<sup>®</sup> über einen Zeitraum von 90 Monaten im Rahmen einer prospektiven Langzeitstudie untersucht. Bei 35 Patienten wurden 45 Klasse III/IV Restaurationen mit 1-SE und mit 2-ER gelegt. Jeder Patient wurde mit beiden Adhäsivsystemen versorgt, wodurch ein direkter



Vergleich der Materialien jeweils in einem Mund möglich war. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte patientenbezogen. Erhielt ein Patient zwei Füllungen eines Materials wurde gemäß der Richtlinien der American Dental Association von 2001 jede dieser Füllungen mit 0,5 bewertet. Als Untersuchungszeitpunkte wurden Baseline (BL), sowie 6, 12, 24, 48 und 90 Monate nach Füllungslegung gewählt. Nach 12 Monaten wurden auf Patientenwunsch die Füllungen nochmals poliert. Die Untersuchung erfolgte klinisch nach den modifizierten USPHS Kriterien. Im Anschluss an die klinische Untersuchung wurden in derselben Sitzung Doppelmischabformungen von den zu untersuchenden Füllungen genommen um Epoxidharz-Repliken für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung herstellen zu können.

Einschlusskriterien für die REM-Untersuchung waren das ununterbrochene Erscheinen der Patienten zu allen Kontrollterminen bis 90 Monate oder bis die Füllung klinisch als insuffizient (modifizierte USPHS Kriterien: C oder D) bewertet wurden. Nach Anwendung dieser Kriterien konnten 13 Patienten ab BL in die Untersuchung eingeschlossen werden. Nach 90 Monaten konnten noch 11 Patienten nachkontrolliert werden.

An den gesockelten und mit Gold bedampften Repliken wurde eine quantitative Randanalyse vorgenommen. Hierfür wurden Einzelaufnahmen des Füllungsrandes bei ca. 200-facher Vergrößerung aufgenommen und überlappend zusammengefügt. Der darstellbare Füllungsrand wurde nach den Kriterien „Perfekter Rand“, „Spalt“, „Überschuss“ und „Unterschuss“ bewertet. Der prozentuale Anteil eines jeden Kriteriums wurde bestimmt. Bei den Merkmalen „Überschuss“ und „Unterschuss“ waren jeweils keine signifikanten Unterschiede feststellbar. Als aussagekräftig stellten sich „Perfekter Rand“ und „Spalt“ heraus. An diesen beiden Kriterien wurden die weiteren Berechnungen durchgeführt. Die beiden Materialien wurden zu allen Untersuchungszeitpunkten direkt miteinander verglichen. Zusätzlich erfolgte eine Verlaufsbeurteilung der einzelnen Materialien über den 90-Monatszeitraum. Anschließend wurden die Ergebnisse der quantitativen REM-Analyse mit den klinischen Ergebnissen von „Randqualität“ und „Randverfärbung“ verglichen, da hier eine Verbindung zu den im REM darstellbaren Merkmalen angenommen wurde.

In der 1-SE Gruppe konnte in der longitudinalen Beobachtung eine signifikante Zunahme des Kriteriums „Spalt“ bei 90 Monaten verglichen mit allen vorherigen Zeitpunkten festgestellt werden. Zusätzlich zeigte sich eine Zunahme von BL zu 12 Monate sowie von BL zu 48 Monate. Beim Kriterium „Perfekter Rand“ präsentierte sich eine signifikante Abnahme in der 1-SE Gruppe von BL zu 12 Monate sowie BL zu 90 Monate und 6 zu 90 Monate.

In der 2-ER Gruppe trat beim Kriterium „Spalt“ eine signifikante Zunahme von 12 zu 90 Monate sowie von 48 zu 90 Monaten auf. Ein Trend zeigte sich von BL zu 90 Monate. Eine signifikante Abnahme des Kriteriums „Perfekter Rand“ konnte in der 2-ER Gruppe von BL zu 12 Monate sowie von BL zu 24 Monate festgestellt werden. Im direkten Vergleich zwischen den Materialien waren in der 1-SE Gruppe zum Zeitpunkt 12 und 90 Monate signifikant weniger Randanteile mit „Perfektem Rand“ nachweisbar als in der 2-ER Gruppe. Dagegen wiesen in der 1-SE Gruppe zum Kontrolltermin nach 48- und 90-Monaten signifikant mehr Randanteile einen Spalt auf als in der 2-ER Gruppe. Ein Trend in dieselbe Richtung zeichnete sich bereits zu 12 Monaten ab.

Beim Vergleich der Ergebnisse der klinischen Analyse mit der quantitativen REM-Randanalyse wurden klinisch bei der Randqualität und der Randverfärbung in beiden Adhäsivgruppen eine Abnahme des USPHS Kriteriums A sowie bis 24 Monate eine Zunahme des Kriteriums B verzeichnet. Ab 48 Monate kam es in der 1-SE- zu zwei Füllungsausschlüssen und in der 2-ER Gruppe zu einem Füllungsausschluss, da die Randqualität klinisch als insuffizient bewertet wurde. In der 1-SE Gruppe wurde nach 90 Monaten eine weitere Füllung wegen klinisch nicht akzeptabler Randqualität und eine Füllung wegen Randverfärbung als insuffizient bewertet. Bei der REM Analyse konnte gleichzeitig in der 1-SE Gruppe beim Kriterium „Spalt“ ein Anstieg von BL 3,4% auf 9,2% nach 12 Monaten nachgewiesen werden. Nach der Politur waren zum Kontrolltermin nach 24 Monaten noch 6,2% Randspalt messbar. Dieser stieg zur Untersuchung nach 90 Monaten auf 17% Füllungsrand mit dem Kriterium „Spalt“ an. Etwas homogener waren die Messergebnisse beim Kriterium „Perfekter Rand“. Von BL 62,2% reduzierte sich der „Perfekte Rand“ bis 12 Monate auf 47,7%. Nach der erneuten Politur nach 1 Jahr kam es zu einem Anstieg auf 51,4% und sogar weiterem Anstieg auf 57,0% zu 90

Monaten. Der erneute Anstieg nach 90 Monaten lässt sich durch den Ausschluss zweier insuffizienter Füllungen nach 48 Monaten erklären.

In der 2-ER Gruppe war der Effekt gleichläufig. Das Merkmal „Spalt“ nahm von BL mit 3,5% stetig auf 10% nach 90 Monaten zu. Das Merkmal „Perfekter Rand“ nahm von BL 70,1% zur 12-Monatsuntersuchung mit 56,1% ab und pendelte sich dann bei 59,7% nach 90 Monaten ein.

Wie aus den Publikationen der Arbeitsgruppe<sup>17,37</sup> zu entnehmen ist, konnten klinisch zur 12-Monats-Nachuntersuchung bereits ein Trend vermutet werden, statistisch signifikante Unterschiede wurde im Vergleich zwischen den Materialien erst ab 48 Monaten und 90 Monaten sichtbar. In der REM Analyse dagegen zeigten sich die ersten Unterschiede bereits nach 12 Monaten.

Auf Basis der vorliegenden Untersuchung lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen:

- Die quantitative Randanalyse mit Replikentechnik und REM kann als standardisiertes Verfahren zur Beurteilung von Füllungsändern verwendet werden.
- Die klinisch untersuchten Merkmale „Randqualität“ und „Randverfärbung“ und die REM-Kriterien „Spalt“ und „Perfekter Rand“ bestätigen sich bei langen Beobachtungszeiträumen gegenseitig.
- Die Randanalyse deckt im Vergleich zu klinischen Kriterien bereits zu deutlich früheren Untersuchungszeitpunkten und mit weniger untersuchten Probanden klinisch relevante Unterschiede zwischen Adhäsivsystemen auf.

Das Adhäsivsystem iBond als frühem Vertreter der Ein-Schritt-selbststätzenden Adhäsive ist dem Etch-and-Rinse System GlumaComfortBond in vivo unterlegen.

## 6. Literaturverzeichnis

### REFERENCES

1. Bortolotto T, Bahillo J, Richoz O, Hafezi F, Krejci I. Failure analysis of adhesive restorations with SEM and OCT: from marginal gaps to restoration loss. *Clin Oral Invest* 2015;19(8):1881–1890.
2. Bradna P. Comparison of Bonding Performance of Self-etching and Etch-and-Rinse Adhesives on Human Dentin Using Reliability Analysis. *J Adhes Dent*:423–429; 2008. doi:10.3290/j.jad.a14144.
3. Bradna P, Vrbova, R, Dudek M, Roubickova A, Housova D. Comparison of bonding performance of self-etching and etch-and-rinse adhesives on human dentin using reliability analysis. *J Adhes Dent* 2008;10(6):423–429.
4. Carvalho RM, Chersoni S, Frankenberger R, Pashley DH, Prati C, Tay FR. A challenge to the conventional wisdom that simultaneous etching and resin infiltration always occurs in self-etch adhesives. *Biomaterials* 2005;26(9):1035–1042.
5. Chan KM, Tay FR, King NM, Imazato S, Pashley DH. Bonding of mild self-etching primers/adhesives to dentin with thick smear layers. *Am J Dent* 2003;16(5):340–346.
6. Ernst C, Galler P, Willershausen B, Halle B. Marginal integrity of class V restorations: SEM versus dye penetration. *Dent Mater* 2008;24(3):319–327.
7. Frankenberger R, Krämer N, Lohbauer U, Nikolaenko SA, Reich SM. Marginal integrity: is the clinical performance of bonded restorations predictable in vitro? *J Adhes Dent* 2007;9(1):107–116.
8. Frankenberger R, Krämer N, Petschelt A. Technique sensitivity of dentin bonding: effect of application mistakes on bond strength and marginal adaptation. *Oper Dent* 2000;25(4):324–330.
9. Frankenberger R, Pashley DH, Reich SM, Lohbauer U, Petschelt A, Tay FR. Characterisation of resin–dentine interfaces by compressive cyclic loading. *Biomaterials* 2005;26(14):2043–2052.

10. Frankenberger R, Tay FR. Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dental Materials*:397–412.
11. Haak R, Hähnel M, Schneider H, Rosolowski M, Park KJ, Ziebolz D, Häfer M. Clinical and OCT outcomes of a universal adhesive in a randomized clinical trial after 12 months. *J Dent* 2019;90:103200.
12. Haak R, Näke T, Park KJ, Ziebolz D, Krause F, Schneider H. Internal and marginal adaptation of high-viscosity bulk-fill composites in class II cavities placed with different adhesive strategies. *Odontology* 2019;107(3):374–382.
13. Haak R, Siegner J, Ziebolz D, Blunck U, Fischer S, Hajtó J, Frankenberger R, Krause F, Schneider H. OCT evaluation of the internal adaptation of ceramic veneers depending on preparation design and ceramic thickness. *Dent Mater* 2021;37(3):423–431.
14. Haak R, Wicht MJ, Noack MJ. Marginal and internal adaptation of extended class I restorations lined with flowable composites. *J Dent* 2003;31(4):231–239.
15. Häfer M, Jentsch H, Haak R, Schneider H. A three-year clinical evaluation of a one-step self-etch and a two-step etch-and-rinse adhesive in non-carious cervical lesions. *J Dent* 2015;43(3):350–361.
16. Häfer M, Schneider H, Rupf S, Busch I, Fuchß A, Merte I, Jentsch H, Haak R, Merte K. Experimental and clinical evaluation of a self-etching and an etch-and-rinse adhesive system. *J Adhes Dent*:275–286.
17. Häfer M, Schneider H, Rupf S, Busch I, Fuchß A, Merte I, Jentsch H, Haak R, Merte K. Experimental and clinical evaluation of a self-etching and an etch-and-rinse adhesive system. *J Adhes Dent* 2013;15(3):275–286.
18. Heintze SD. Systematic reviews: I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II The correlation between marginal quality and clinical outcome. *J Adhes Dent* 2007;9(1):77–106.
19. Heintze SD. Clinical relevance of tests on bond strength, microleakage and marginal adaptation. *Dent Mater* 2013;29(1):59–84.
20. Heintze SD, Blunck U, Göhring TN, Rousson V. Marginal adaptation in vitro and clinical outcome of Class V restorations. *Dent Mater* 2009;25(5):605–620.

21. Heintze SD, Thunpithayakul C, Armstrong SR, Rousson V. Correlation between microtensile bond strength data and clinical outcome of Class V restorations. *Dent Mater* 2011;27(2):114–125.
22. Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. 5th ed. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag, 2009.
23. Hickel R, Roulet JF, Bayne S, Heintze SD, Mjör IA, Peters M, Rousson V, Randall R, Schmalz G, Tyas M, Vanherle G. Recommendations for conducting controlled clinical studies of dental restorative materials. *Clin Oral Invest* 2007;11(1):5–33.
24. Merte I, Schneider H, Merte K. Ist es notwendig, eingeführte Füllungsmaterialien klinisch-experimentell zu bewerten? *Schweizer Monatsschr Zahnmed* 2004;114:1124–1131.
25. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res* 1982;16(3):265–273.
26. Ozer F BMB. Self-etch and etch-and-rinse adhesive systems in clinical dentistry. *Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, N.J. 1995)* 2013;34(1):12-4, 16, 18; quiz 20, 30.
27. Peumans M, de Munck J, van Landuyt K, Lambrechts P, van Meerbeek B. Five-year clinical effectiveness of a two-step self-etching adhesive. *J Adhes Dent* 2007;9(1):7–10.
28. Peumans M, Kanumilli P, de Munck J, van Lanuyt K, Lambrechts P, van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dental Materials*:864–881.
29. Peumans M, Kanumilli P, de Munck J, van Lanuyt K, Lambrechts P, van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dent Mater* 2005;21(9):864–881.
30. Peumans M, de Munck J, Mine A, van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives for the restoration of non-carious cervical lesions. A systematic review. *Dent Mater* 2014;30(10):1089–1103.
31. Peumans M, de Munck J, van Landuyt KL, Poitevin, A, Lambrecht, P, van Meerbeek B. Eight-year clinical evaluation of a 2-step self-etch adhesive with and without selective enamel etching. *Dent Mater* 2010;26(12):1176–1184.

32. Roulet JF, Reich T, Blunck U, Noack M. Quantitative margin analysis in the scanning electron microscope. *Scanning Microsc* 1989;3(1):147–159.
33. Roulet JF, Seewaldt A, Noack MJ. Margin quality of class III and IV composites in vivo. *Dent Mater*:179–185.
34. Salvio LA, Hipólito VD, Martins AL, de Goes MF. Hybridization quality and bond strength of adhesive systems according to interaction with dentin. *Eur J Dent* 2013;7(3):315–326.
35. Schneider H, Busch I, Busch M, Jentsch H, Häfer M. Effect of operator-specific handling on tooth-composite interface and microleakage formation. *Oper Dent* 2009;34(2):200–210.
36. Schneider H, Park KJ, Häfer M, Rüger C, Schmalz G, Krause F, Schmidt J, Ziebolz D, Haak R. Dental applications of optical coherence tomography (OCT) in cariology. *Applied Sci* 2017;7(5):472.
37. Schneider H, Steigerwald-Otremba AS, Häfer M, Krause F, Scholz M, Haak R. Is optical coherence tomography a potential tool to evaluate marginal adaptation of class III/IV composite restorations in vivo? *Oper Dent* 2019;44(3):242–253.
38. Singh V, Misra A, Parthasarathy R, Ye Q, Spencer P. Viscoelastic properties of collagen-adhesive composites under water-saturated and dry conditions. *J Biomed Mater Res* 2015;103(2):646–657.
39. Spencer P, Ye Q, Misra A, Goncalves, S. E. P., Laurence JS. Proteins, Pathogens, and Failure at the Composite-Tooth Interface. *Journal of Dental Research* 2014;93(12):1243–1249.
40. van Landuyt KL, Yoshida Y, Hirata I, Snauwaert J, de Munck J, Okazaki M, Suzuki K, Lambrechts P, van Meerbeek B. Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *J Dent Res* 2008;87(8):757–761.
41. van Meerbeek B, de Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper. Dent*:215–235.
42. van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, van Ende A, Neves A, de Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater* 2010;26(2):e100-121.

43. van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, J. DM, van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2011;27(1):17–28.



## 7. Wissenschaftliche Veröffentlichungen

### *Im Rahmen der Promotion*

1. **A. Seufert**, H. Schneider, M. Häfer, M. Scholz, R. Haak  
*Quantitative Randalanalyse an Klasse-III/IV-Kompositfüllungen  
All-in-One- versus Etch-and-Rinse-Adhäsiv*  
1.Gemeinschaftstagung der DGZ und der DGET mit der DGPZM/DGR<sup>2</sup>Z vom  
11. – 12. 10.2013 in Marburg; Posterpräsentation

### *Im Rahmen der Weiterbildung zur Fachärztin für Oralchirurgie*

2. **A. Seufert**, H. Zalikowski, U. Wiegner, JU. Wiegner  
*Präventive Augmentationsmethoden im Bereich der posterioren Maxilla: Der  
indirekte Sinuslift zur Extraktion*  
Dentale Implantologie & Parodontologie. Balingen: Spitta Verlag GmbH & Co.  
KG, (2015); Fachbeitrag
3. H. Klinsmann, **A. Seufert**, U.Wiegner, T. Kreher, F. Gwosdz, JU. Wiegner  
*Der Einfluss der Implantat-Abutment-Verbindung auf das marginale  
Knochenniveau.*  
Z Zahnärztliche Implantologie (2016); 32:297-304; Fachbeitrag

## 8. Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

.....

Datum

.....

Unterschrift

## Darstellung des eigenen Beitrags

### Erklärung über den wissenschaftlichen Beitrag des Promovenden zur Publikation

Name, Vorname: Brückner, Amelie

Institut: Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie

Angestrebter Doktorgrad: Dr. med. dent.

Thema der Dissertation: **Is there an association between clinical and SEM quantitative marginal analysis in a 90 month trial?**

Hiermit erkläre ich, dass ich bei der Erstellung und Veröffentlichung der Publikation:

Rainer Haak\*; Amelie Brückner\*; Matthias Häfer, Markus Scholz, Hartmut Schneider

**Is there an association between clinical and SEM quantitative marginal analysis in a 90 month trial?**

[\*geteilte Erstautorenschaft]

folgenden wissenschaftlichen Beitrag geleistet habe:

- Vorversuch und rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (REM)
- Auswertung der REM-Daten
- statistische Auswertung unter Supervision
- Interpretation der Ergebnisse
- (Mit-)Erstellung des Manuskripts

Gera, 02.05.21

Ort, Datum

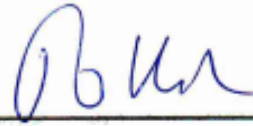
A Brückner

Amelie Brückner

Hiermit bestätige ich als Mitautor o. g. Publikation, die von Frau Amelie Brückner  
abgegebene Erklärung:

Leipzig, 6.5.2021

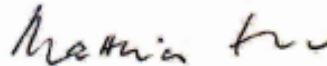
Ort, Datum



Univ.-Prof. Dr. Rainer Haak, MME

Leipzig, 3.5.2021

Ort, Datum



Dr. Matthias Häfer

\_\_\_\_\_  
Ort, Datum

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Markus Scholz

UNIVERSITÄTSKLINIKUM LEIPZIG A&R  
Department für Kopf- und Zahnmedizin  
Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie  
Dr. rer. nat. Hartmut Schneider  
Leiter wiss. Labor  
bigbigstraße 12, Haus 1 • 04103 Leipzig  
Telefon 0341/97-2 12 63

Leipzig, 3.5.21

Ort, Datum



Dr. Hartmut Schneider

(korrespondierender Autor)

Hiermit bestätige ich als Mitautor o. g. Publikation, die von Frau Amelie Brückner  
abgegebene Erklärung:

\_\_\_\_\_  
Ort, Datum

\_\_\_\_\_  
Univ.-Prof. Dr. Rainer Haak, MME

\_\_\_\_\_  
Ort, Datum

\_\_\_\_\_  
Dr. Matthias Häfer

Leipzig, 04.05.2021  
Ort, Datum

  
Prof. Dr. Markus Scholz  
**UNIVERSITÄT LEIPZIG**  
Medizinische Fakultät  
MISE/AG Genetische Statistik  
Häfelstraße 16-18 · 04107 Leipzig  
Tel. 0341 / 97-1 61 90 · Fax 97-1 61 09

\_\_\_\_\_  
Ort, Datum

\_\_\_\_\_  
Dr. Hartmut Schneider  
(korrespondierender Autor)



## 10. Danksagung

Ich bedanke mich bei meinen Betreuern **Herrn Univ.-Prof. Dr. Rainer Haak** und **Herrn Dr. rer. nat. Hartmut Schneider**, die mir die Möglichkeit gegeben haben diese Arbeit unter ihrer Leitung durchzuführen und die mir mit ihrem Wissen zur Seite standen.

Ebenso danke ich **Frau Claudia Rüger** für die technische Unterstützung im Labor.

Ich danke meinen **Eltern** von Herzen, die in jeglicher Hinsicht die Grundsteine für meinen Weg gelegt haben.

Ich danke zutiefst meinem **Mann Tobias Brückner**, der mich seit dem Beginn unserer Beziehung stets mit der Promotion teilen musste, für Seine Geduld und Liebe in dieser Zeit.