

Der Einfluß verschiedener Frontzahnfüllungsmaterialien auf das In-vitro-Wachstum von *Streptococcus mutans*

Von G. Schmalz, Tübingen*

Untersucht wurde der Einfluß verschiedener Frontzahnfüllungsmaterialien auf die Wachstumscharakteristik plaquebildender Streptokokken. Während Silikat-Zement das Bakterienwachstum hemmte, förderten Kunststoffmaterialien sofort nach dem Anmischen das Wachstum. Toxische Gewebereaktionen können durch bakterielle Plaqueakkumulation ausgelöst werden. Unsere Untersuchungsmethode ergänzt vorhandene In-vitro-Tests zur Erfassung der chemisch-toxischen Aktivität.

Einleitung

Zahnärztliche Materialien können auf drei verschiedenen Wegen Gewebeerirritationen hervorrufen: 1. durch eine chemisch-toxische Reaktion zwischen einer aus dem applizierten Material gelaugten Substanz und dem biologischen Rezeptor [13, 41], 2. durch physikalische Vorgänge (z. B. Abbindewärme der Autopolymerisate) [14, 19, 33] und 3. durch verstärkte Plaqueakkumulation [20, 39].

Quantitative Untersuchungen der Plaque auf und in unmittelbarer Nachbarschaft verschiedener Füllungsmaterialien von Norman et al. [24] ergaben, daß sich die Zusammensetzung der Plaque auf Füllungsmaterialien mit der Verweildauer der Werkstoffe im Munde des Patienten änderte. Die Menge der Plaque war auf Silikatfüllungen generell geringer.

Engelhardt [7, 8] konnte nachweisen, daß nicht-kariogene Bakterienstämme den Kohlenstoff zahnärztlicher Kunststoffe abbauten und als Nährsubstrat aufnahmen. Klötzer [17] folgerte daraus, daß bakterielle Schleimhautirritationen auch im Kontakt mit nicht-chemisch-toxischen Kunststoffmaterialien auftreten können.

Renggli [30] weist auf die Schwierigkeiten bei der Feststellung der Ursachen einer erhöhten Plaqueakkumulation an zahnärztlichen Materialien hin. Rein mechanische Ursachen (wie rauhe Materialoberfläche, Randspalten oder überhängende Ränder) können ebenso zu einer gesteigerten Plaqueanhäufung führen, wie der biologische Einfluß auf das Bakterienwachstum.

Andere Autoren bestätigen, daß der klinische Versuch nicht dazu geeignet ist, eine direkte biologische Wirkung (z. B. chemisch-toxischer Natur) gegen andere Einflüsse abzugrenzen [9, 10, 37, 40]. Um solche möglichst auszuschalten, wurden in der vorliegenden Arbeit Füllungsmaterialien in Monokulturen plaquebildender, kariogener Streptokokken in vitro getestet und miteinander verglichen. Neben der Frage, wie diese Werkstoffe das Bakterienwachstum beeinflussen, sollte primär untersucht werden, ob die angewandte Versuchsanordnung eine Ergänzung bisher bekannter in-vitro Tests zur biologischen Materialprüfung darstellt.

Eigene Untersuchungen

Untersucht wurden folgende Füllungsmaterialien: 1. „Silicap“ (1*) – 2. „Compocap“ (2*) – 3. „Polycap“ (3*) – 4. „Cosmic“ (4*) – 5. „Concise“ (5*) – 6. „Epoxydent“ (6*).

Die Materialien 1 bis 3 wurden in Kapselform geliefert, die restlichen in Form zweier Pasten.

Die Kapselmateriale wurden im „Silamat“ (7*) 10 sec lang angemischt, anschließend unter sterilen Kautelen der Kapsel entnommen und mit sterilem Filterpapier zu 1 cm langen Zylindern gerollt. Die manuell angemischten Materialien wurden ebenfalls unter sterilen Kautelen nach Angaben der Hersteller angespatelt, mit sterilem Filterpapier zu 1 mm star-

1*–3* Vivident, Schaan/Liechtenstein, Charge Nr.: 01074, Farbe 1A–1B, Charge Nr.: 250675–007, Charge Nr.: 040975–032

4* De Trey, Wiesbaden (Herstellg. erfolgte i. England), Charge Nr.: RC21

5* 3M-Company, St. Paul, Min./USA, Charge Nr.: 51342

6* Lee-Pharmaceuticals, South El Monte, Calif./USA, Charge Nr.: 0515 Ex-1

7* Vivident, Schaan/Liechtenstein

* Abteilung für Zahnerhaltung des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Universität Tübingen (Osianderstraße 2–8, D-7400 Tübingen 1)

ken Zylindern gerollt und in 1 cm lange Stücke geschnitten.

Die Untersuchungsmethode ist von Nunez et al. [25] beschrieben worden. Zum Test wurde Strept. mutans HS-6¹⁾ benutzt.

Im einzelnen wurden folgende Versuche durchgeführt:

1. Alle Versuchs- und die entsprechenden Kontrollkulturen wurden mit 1 ml einer 20 Std. alten Bakterien-suspension inokuliert. Das Wachstum wurde nach 60 Std. Inkubation gemessen (Methode n. Nunez).
2. Alle Versuchs- und die entsprechenden Kontrollkulturen wurden mit 0,05 ml einer 20 Std. alten

¹⁾ Freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. L. J. Nunez, MST Laboratories, University of Tennessee, Center for the Health Sciences, Memphis, Tenn./USA

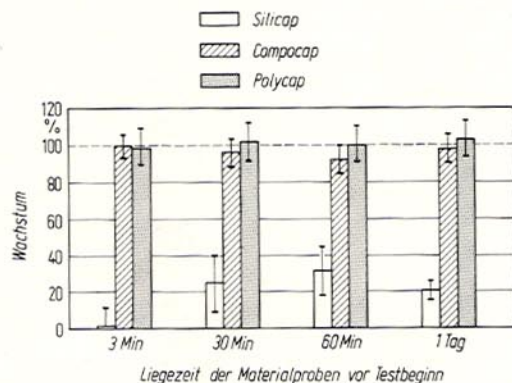


Abb. 1. Die Beeinflussung des Bakterienwachstums durch „Silicap“, „Compocap“ und „Polycap“ – 60 Std. Inkubation, 1 ml Inokulat.

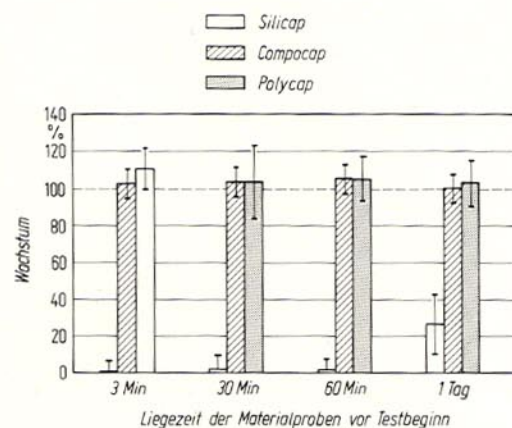


Abb. 2. Die Beeinflussung des Bakterienwachstums durch „Silicap“, „Compocap“ und „Polycap“ – 20 Std. Inkubation, 0,05 ml Inokulat.

Bakteriensuspension inokuliert. Das Wachstum wurde nach 20 Std. Inkubation gemessen.

Die Liegezeit der Testmaterialien, d. h. die Zeit vom Anmischen bis zum Versuchsbeginn, betrug 3 min, 30 min, 1 Std., 1 Tag und bei „Silicap“ zusätzlich 7 Tage. Die Lagerung erfolgte in sterilen Petrischalen bei 37 °C und 80% relativer Luftfeuchtigkeit.

Die materialbedingte Beeinflussung des Bakterienwachstums (% RW) wurde entsprechend den Angaben von Nunez et al. in Prozenten der Referenzkultur berechnet. Der Wert % RW ist dabei um alle nicht materialbedingten Veränderungen im Medium linear korrigiert.

Da ein statistischer Signifikanztest (z. B. Varianzanalyse) durch die große Zahl der Variablen ein sehr niedriges Signifikanzniveau erhält, ist für jeden Versuch die

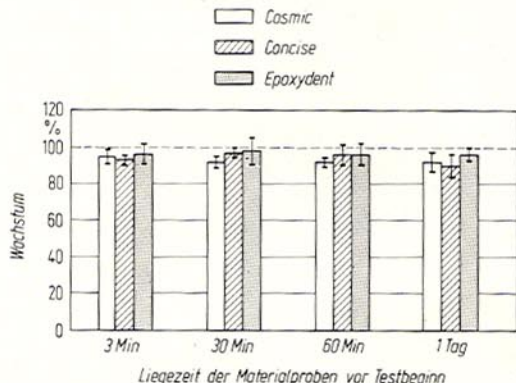


Abb. 3. Die Beeinflussung des Bakterienwachstums durch „Cosmic“, „Concise“ und „Epoxydent“ – 60 Std. Inkubation, 1 ml Inokulat.

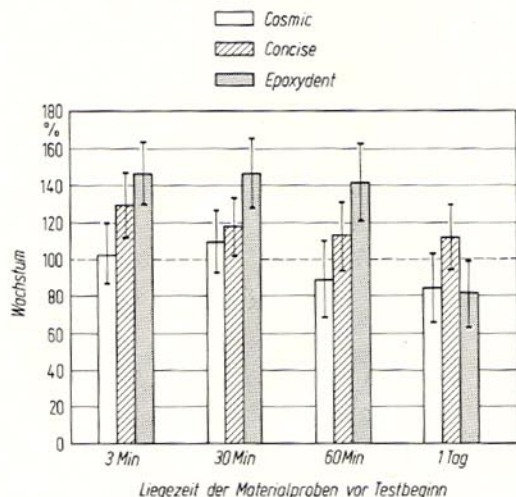


Abb. 4. Die Beeinflussung des Bakterienwachstums durch „Cosmic“, „Concise“ und „Epoxydent“ – 20 Std. Inkubation, 0,05 ml Inokulat.

Fehlerfortpflanzung berechnet worden. Die Gesamtschwankungsbreite wurde als Fehler gewertet.

Ergebnisse

Da die Testmaterialien nicht sterilisiert wurden, bestand die Gefahr einer Kontamination. Dies trat vereinzelt bei Silicap nach 3 min Liegezeit auf. Alle anderen Materialien erwiesen sich als eigensteril. Die beim Silikat aufgetretene Kontamination hat jedoch keinen Einfluß auf die Größe % RW, da diese entsprechend korrigiert ist [25]. Die Versuchsergebnisse sind in den Abb. 1 bis 4 in Form von Säulendiagrammen mit der entsprechenden Fehlerbreite dargestellt. Dabei bedeutet 0%: totale Wachstumshemmung, 100%: keinerlei Beeinflussung, Wert über 100%: Wachstumsförderung. Silicap bewirkte nach 7tägiger Liegezeit eine 60- bis 70proz. Wachstumshemmung (in den Säulendiagrammen nicht dargestellt).

Diskussion

1. Testmaterialien

Die beobachtete Hemmung des Bakterienwachstums durch Silikat zement steht im Einklang mit den Untersuchungen von Norman et al. [24] und Skörland [35]. Sie entspricht dem chemisch-toxischen Potential dieses Materials auf die Pulpa, welches in Versuchen bei Ratten [34], Hunden [22], Affen [18] und am Menschen [23] gefunden wurde. Nach siebentägiger Liegezeit ist ein begrenztes Bakterienwachstum (30 bis 40%) beobachtet worden. Dies deckt sich mit den Angaben von Brännström und Nyberg [6], die unter Silikatfüllungen Mikroorganismen festgestellt hatten.

Als Ursache der bakteriziden Eigenschaften des Silikat zementes bei kurzen Liegezeiten kann Säureeinwirkung angenommen werden. Bartelt [4] hat bei Untersuchungen des pH-Wertes während des Abbindevorganges von Silikat zementen festgestellt, daß dieser sich in den ersten 24 Stunden von 3 bis 3,3 auf 4,5 bis 5,1 erhöht; analog dazu stellten wir einen Anstieg des relativen Bakterienwachstums bei Silikat von 0% auf 30% fest. Vollständig abgebundenes Silikat enthält jedoch keine freie Phosphorsäure und keine primären Phosphate mehr [15]. Trotzdem hemmt es noch bei einer Liegezeit von 7 Tagen das Wachstum der Kulturen um 60 bis 70%. Pecchioni [27] konnte

bei seinen Versuchen keine Durchlässigkeit des Dentins für radioaktiv markiertes Phosphor finden und machte für das Absterben der Pulpa unter Silikatfüllungen andere Noxen verantwortlich. Norman et al. [24] wiesen in diesem Zusammenhang auf den hohen Gehalt an Fluorionen hin, welcher bis zu 15% des Pulvers betragen kann [26]. Auch frei werdendes Arsen und Beryllium [31], sowie Chlorionen [29] sind für die toxische Reaktion verantwortlich gemacht worden.

Die bakterizide Wirkung des Silikat zementes wird durch klinische Beobachtungen bestätigt, wobei an Schmelzflächen, die solchen Füllungen gegenüberliegen, signifikant weniger Karies auftritt als an Flächen, die gegenüber von Silber- oder Kupfer zementfüllungen liegen [21]. Außerdem konnte gezeigt werden, daß die Schmelzlöslichkeit herabgesetzt war [28, 38], was auch die verminderte Kariesrate erklären kann.

Bei den untersuchten Kunststoffen konnte in keinem Fall eine Hemmung des Bakterienwachstums beobachtet werden. Dies ist erstaunlich, da Composite-Materialien in frisch angemischtem Zustand auf Gewebekulturen toxisch wirken und sowohl beim Versuchstier als auch am Patienten – ohne Unterfüllung – Pulpairritationen auslösen [1, 5, 12, 32, 36, 42].

Eine Tendenz zur Wachstumssteigerung der Bakterien durch die Kunststoffmaterialien ist in der zweiten Versuchsreihe (20 Std. Inkubation, 0,05 ml Inokulat) erkennbar. Dieser Effekt tritt besonders deutlich bei den Pastenmaterialien nach kurzer Liegezeit auf. Dabei scheint „Epoxydent“ das Wachstum stärker zu fördern als „Concise“ und „Cosmic“. Allerdings überschneiden sich die Fehlerbereiche von „Epoxydent“ und „Concise“, so daß ein Unterschied zwischen diesen beiden Materialien nicht gesichert werden kann. Zwischen „Cosmic“ und „Epoxydent“ ist jedoch bei Liegezeiten bis zu einer Stunde ein deutlicher Unterschied meßbar. Die letztgenannten Werkstoffe – Composite-Materialien – unterscheiden sich nach Angaben der Hersteller im organischen Binder: „Epoxydent“ enthält ein Epoxyharz nach der Bowen-Formel, „Cosmic“ einen Polyurethanbinder. Diese Kunststoffbasen sowie ihre entsprechenden Reaktorsysteme kön-

nen für das unterschiedliche biologische Verhalten verantwortlich gemacht werden, ohne daß damit der eigentliche Mechanismus geklärt ist. Die vorliegenden Ergebnisse decken sich mit denen von Engelhardt [7, 8]. Jedoch konnte in seinen Versuchen die kunststoffabbauende Fähigkeit nur für nicht-kariogene Mundbakterien, nicht aber für plaquebildende Streptokokken nachgewiesen werden. Dies kann an den unterschiedlichen Versuchsbedingungen (z. B. Ansatz der Nährlösungen) gelegen haben. Eine gegenüber der Kontrolle erhöhte Plaqueakkumulation auf Composite-Materialien hat auch Skörlund [35] ermittelt.

2. Testmethode

Durch die deutliche Herabsetzung der Inokulationsdichte von 1 ml auf 0,05 ml und der Inkubationszeit von 60 auf 20 Stunden wird in der zweiten Versuchsreihe die Wachstumsbeeinflussung nicht mehr – wie Nunez et al. [25] vorgeschlagen haben – in der stationären Phase gemessen, sondern am Ende der logarithmischen und am Anfang der zweiten Übergangsphase (Herbert [11]).

Bei der von Nunez et al. angegebenen Methode haben die Referenzkulturen das maximal mögliche Wachstum unter den gegebenen Versuchsbedingungen erreicht. Darüberhinausgehende wachstumsfördernde Eigenschaften von Materialien können deshalb nur schwer erfaßt werden. Die genannten Autoren haben die stationäre Phase zur Messung deshalb vorgeschlagen, weil hier die Streuung innerhalb der Replikate vergleichsweise gering ist und dadurch auch kleine Unterschiede zwischen verschiedenen Materialien leichter statistisch gesichert werden können.

Bei Experimenten am Anfang der zweiten Übergangsphase haben die Referenzkulturen das maximal mögliche Wachstum noch nicht erreicht. Wachstumsfördernde Eigenschaften von Testmaterialien können eher bestimmt werden, dabei muß man aber eine erheblich größere Streuung innerhalb der Replikate in Kauf nehmen, was die statistische Auswertung erschwert.

Bei Beurteilung der angewandten Testmethode ist zu klären, ob die erzielten Ergebnisse mit der klinischen Erfahrung im Einklang stehen, und ob

die Information, welche man durch diese Methode erhält, eine sinnvolle Ergänzung der Resultate anderer vergleichbarer In-vitro Toxizitätstests darstellt.

Wie bereits erwähnt, entsprechen die vorliegenden Ergebnisse beim Silikatmaterial unseren klinischen Erfahrungen. Die bei Composite-Materialien beobachtete erhöhte PlaqueRetention an der Füllungsoberfläche [20] läßt sich auch mit der z. Z. noch ungenügenden Polierbarkeit dieser Materialien erklären. Klötzer [16] beobachtete jedoch, daß beim „Pyroplast“, welches nach Angaben von Autian [3] nicht toxisch ist, Gewebeerirritationen im Kontakt mit der Mundschleimhaut auftraten (Rhesusaffe). Eine mechanische PlaqueRetention kann weitgehend ausgeschlossen werden, da „Pyroplast“ polierbar ist und Randspalten in der vorliegenden Versuchsanordnung [16] vernachlässigt werden konnten. Ein solcher Effekt kann dadurch erklärt werden, daß Kunststoffmaterialien das Bakterienwachstum beschleunigen, wie auch die vorliegende Arbeit zeigt.

Es ist somit denkbar, daß im gleichen Material chemisch-toxische Eigenschaften mit wachstumssteigernden Potenzen auf Bakterien vergesellschaftet sein können. Beide Reaktionen müssen also getrennt voneinander betrachtet werden. Da Gewebeerirritationen auch über erhöhte Plaqueakkumulation ausgelöst werden können, sind einfache präklinische Tests zur Erfassung des chemisch-toxischen Potentials, wie Autian [2] vorgeschlagen hat, nicht ausreichend. Die vorliegende Untersuchung stellt u. E. eine Ergänzung geübter biologischer Tests dar.

Summary

While silicate cement inhibits bacterial growth, resin materials promote it immediately after mixing. Toxic tissue reactions may be induced by bacterial plaque accumulation. Our testing method complements existing in-vitro tests for recording chemo-toxic activities.

Schrifttum

1. Adam, R. F., and Lord, G. H.: Preliminary histopathological study of a new quartzfilled composite. J. dent. Res. 50, 474 (1971).
2. Autian, J.: General toxicity and screening test for dental materials. Vortrag, 61st Ann. Session of the FDI, Sidney/Austr. 1973.
3. Autian, J.: Materials Science Laboratories, Test No Y-1299, 1970.

4. Bartelt, I.: Med. Diss., Berlin 1966 – zit. n. Mayer, R.: Kariestherapie mit plastischen Füllungsmaterialien – kritisch gesehen. Dtsch. zahnärztl. Z. 31, 488 (1976).
5. Baume, L.-J., und Fiore-Donno, G.: La réaction pulpaire à l'égard del 'Addent XV et sa prévention. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 81, 1099 (1971).
6. Brännström, M., and Nyberg, H.: The presence of bacteria in cavities filled with silicate cements and composite resin materials – Swed. dent. J. 64, 149 (1971).
7. Engelhardt, J. P.: Zahnärztliche Kunststoffe. Untersuchung zur Frage ihrer Beständigkeit gegenüber Mikroorganismen. Habil.-Schrift, Düsseldorf 1970.
8. Engelhardt, J. P.: Die Beständigkeit zahnärztlicher Kunststoffe gegenüber Mikroorganismen. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 83, 656 (1973).
9. Götte, H.: Zur Stoffschädigung durch Kunststoffprothesen. Zahnärztl. Prax. 15, 64 (1964).
10. Hedegard, B.: Methods and criteria in the evaluation of oral mucosa response. Int. dent. J. 20, 475 (1970).
11. Herbert, D.: Microbial reaction to environment – Cambridge Univ. Press. N.Y., 1961, p. 395.
12. Hermann, D., und Viohl, J.: Klinische Untersuchungen mit einem neuen Kunststoff-Füllungsmaterial. Dtsch. zahnärztl. Z. 23, 212 (1968).
13. Homsy, C. A.: Bio-Compatibility in selection of materials for implantation. J. Biomed. Mat. Res. 4, 341 (1970).
14. James, V. E., and Diefenbach, G.: Early dentinal and pulpal changes following cavity preparations and filling materials in dogs. J. Canad. dent. Ass. 22, 95 (1956).
15. Keitel, W.: Die Silikat-zementfüllung heute, I. und II. Zahnärztl. Prax. 12, 157 und 160 (1961).
16. Klötzer, W. T.: Tierexperimentelle Prüfung von Materialien und Methoden der Kronen- und Brückenprothetik. Habil.-Schrift, Tübingen 1971.
17. Klötzer, W. T.: Die Reaktion der Gingiva im Kontakt mit zahnärztlichen Materialien. Dtsch. zahnärztl. Z. 28, 1181 (1973).
18. Klötzer, W. T., und Langeland, K.: Tierexperimentelle Prüfung von Materialien und Methoden der Kronen- und Brückenprothetik. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 83, 163 (1973).
19. Korthals, E.: Einwirkung der schnellpolymerisierenden Kunststoffe auf die Pulpa beim Abdichten und Aufsetzen der Zahnkronen aus Kunststoff. Dtsch. zahnärztl. Z. 18, 718 (1963).
20. Larato, D. C.: Influence of a composite resin restoration on the gingiva. J. Prosth. Dent. 28, 402 (1972).
21. Lind, V., Wennerholm, G., and Nyström, S.: Contact caries in connection with silver amalgam, copper amalgam and silicate fillings. Acta odont. Scand. 22, 333 (1964).
22. Manley, E. B.: A preliminary investigation into the reaction of the pulp to various filling materials. Brit. dent. J. 60, 321 (1936).
23. Manley, E. B.: Investigation into the early effects of various filling materials on the human pulp. Dent. Rec. 62, 1 (1942).
24. Norman, R. D., Mehra, R. V., Swartz, L., and Phillips, R. W.: Effects of restorative materials on plaque composition. J. dent. Res. 51, 1596 (1972).
25. Nunez, L. J., Schmalz, G., and Hembree, J.: Influence of amalgam, alloy and mercury on the in vitro growth of streptococcus mutans: Biological test system. J. dent. Res. 55, 257 (1976).
26. Pfaffenbarger, G. C., Schoonover, I. C., and Sounder, W.: Dental silicate cements, physical and chemical properties and a specification. J. Amer. dent. Ass. 25, 32 (1938).
27. Pecchioni, A.: Les ciments au silicates et le problème de la pénétration dans la dentine de l'acide orthophosphorique. Recherches autoradiographique. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 72, 57 (1962).
28. Phillips, R. W., and Swartz, M. L.: Effect of certain restorative materials on solubility of enamel. J. Amer. dent. Ass. 54, 623 (1957).
29. Pilz, W., Plathner, C.-H., und Taatz, H.: Grundlagen der Kariologie und Endodontie. Carl Hanser Verlag München, 1969 p. 424.
30. Renggli, H. H.: Auswirkung subgingivaler approximaler Füllungsrande auf den Entzündungsgrad der benachbarten Gingiva. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 84, 1 (1974).
31. Sauerwein, E.: Zahnerhaltungskunde. G. Thieme Verlag Stuttgart, 1970 p. 56.
32. Schindler, H. H., Röttig, E., und Triadan, H.: Vergleichende histologische Untersuchungen über die Pulpreaktion auf drei neuere Composite Füllungsmaterialien. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 82, 500 (1972).
33. Schneider, S. K.: Die direkte Herstellung von provisorischem Ersatz bei Kronen- und Brückenarbeiten. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 76, 19 (1966).
34. Silberkweit, M., Massler, M., Schour, I., and Weinmann, J. P.: Effect of filling materials on the pulp of rat incisors. J. dent. Res. 34, 854 (1955).
35. Skörlund, K. K.: Plaque accumulation on different dental filling materials. Scand. J. dent. Res. 81, 538 (1973).
36. Spangberg, L., Rodriguez, H., Langeland, L., and Langeland, K.: Biologic effect of dental materials: 2. Toxicity of anterior tooth restorative materials on HeLa cells in vitro. Oral Surg. 35, 713 (1958).
37. Stein, R. S.: Ponic-residual ridge relationship – A research report. J. prosth. Dent. 16, 251 (1966).
38. Swartz, M. L., and Phillips, R. W.: Effect of certain restorative materials on solubility of dentin. J. dent. Res. 37, 811 (1958).
39. Waerhaug, J.: Effect of rough surfaces upon gingival tissue. J. dent. 35, 323 (1956).
40. Waerhaug, J.: Histologic considerations which govern where the margins of restorations should be located in relation to the gingiva. Dent. Clin. N. Amer. 4, 161 (1966).
41. Welker, D., und Neupert, G.: Vergleichende In-vitro-Studie zellulärer Reaktionen auf lösliche Bestandteile von EBA- und Phosphatzement. Dtsch. zahnärztl. Z. 30, 522 (1975).
42. Wülstermann, G.: Histologische Untersuchungen über die Reaktion der Pulpa auf Palakav. – Zahnärztl. Welt 71, 432 (1970).

Anschrift des Verfassers: Dr. Gottfried Schmalz,
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Universität Tübingen,
Osianderstraße 2–8, D-7400 Tübingen