

Toxizitätsprüfungen von Füllungsmaterialien im Ratten-Implantationstest

G. Schmalz und H.-J. Bühler, Tübingen*

Im subkutanen Ratten-Implantationstest, wie von der FDI empfohlen, riefen 3 verschiedene Amalgame bei kurzer Alterungszeit vor der Implantation (10 min bis 1 h) eine Gewebereaktion hervor, die jedoch mit zunehmender Alterungszeit (1 Tag bis 7 Tage) deutlich nachließ. Die geringfügig erhöhte Toxizität des γ -2-phasenfreien Amalgams gegenüber konventionellen war statistisch nicht signifikant. Komposite riefen bei kurzer Alterungszeit eine geringere Gewebereaktion hervor als Amalgame; nach 7 Tagen waren jedoch keine Unterschiede mehr nachweisbar.

Die vorliegenden Ergebnisse entsprechen im allgemeinen der klinischen Erfahrung, obwohl auch Unstimmigkeiten auftraten. Die verwandte Methode kann und soll Anwendungstests nicht ersetzen, sondern biologische Basisinformationen liefern, vergleichbar physikalischen Materialprüfungen und im Sinne einer relativen Toxizitätsanalyse Vergleiche zwischen nahe verwandten Materialien erlauben. Für diesen Zweck erscheint das Verfahren grundsätzlich geeignet, obwohl noch technische Probleme zu lösen sind.

Einleitung

Da Füllungsmaterialien heute als Arzneimittel gelten [2], sind u. a. präklinische Prüfungen ihrer biologischen Eigenschaften erforderlich. In dazu ausgearbeiteten standardisierten Prüfprogrammen [1, 4, 19] ist auch der subkutane Implantationstest in der Ratte vorgesehen.

Gegenüber dem ursprünglich von Mitchell et al. [11] angegebenen und seither [12, 20 u. a.] vielfach verwandten Verfahren sind besonders im Hinblick auf Materialträger und Auswertung der Gewebeanwort Änderungen vorgenommen worden. In der vorliegenden Untersuchung wurde daher die Toxizität einer Reihe von Füllungsmaterialien nach diesem so modifizierten Verfahren bestimmt, um Informationen über die Prüf-

materiale, vor allem jedoch über die Methode zu erhalten.

Material und Methode

Folgende Materialien wurden untersucht:

- ein Feinspan-Amalgam¹
- ein Kugel-Amalgam²
- ein γ -2-phasenfreies Amalgam³
- ein Komposit mit Makrofüller⁴
- ein Komposit mit Mikrofüller⁵

Die Testmaterialien wurden entsprechend den Angaben der Hersteller praxisüblich angemischt und unter Wahrung steriler Kautelen in 6–8 mm lange autoklavisierte Polytetrafluoräthylen-Röhrchen (= Teflon-Röhrchen⁶) abgefüllt. Nach vier verschiedenen Alterungszeiten (5 min, 60 min, 1 Tag und 7 Tage) wurden je Tier 4 Materialproben subkutan implantiert. Pro Material und Alterung standen 5 Ratten⁷ zur Verfügung. Nach 14 Tagen wurden die Tiere mit einer Überdosis Chloroform getötet, das Gewebe um die Proben großzügig exzidiert und makroskopisch untersucht. Je eine Gewebeprobe pro Tier wurde routinemäßig histologisch aufbereitet und der einzelne Paraffinblock so weit angeschnitten, bis die oberste Schicht des Teflonröhrchens freilag. Nach Entfernen des Implantates wurde der entstandene Hohlraum mit flüssigem Paraffin aufgefüllt. Je 8 Serienschritte einer Gewebeprobe mit einer Dicke von ca. 6 μ m wurden mit HE und nach Giemsa gefärbt.

Die Häufigkeit von Entzündungszellen (neutrophile Leukozyten und Lymphozyten) wurde nach folgendem Schema ausgewertet:

* Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde – Abteilung für Zahnerhaltung – der Universität Tübingen (Osianerstr. 2–8, 7400 Tübingen).

¹ Amalcap® F Degussa Special-Alloy-Fine Grain, Charge-Nr.: 050 177F482 156. Vivadent, Schaan/Liechtenstein.

² Kerr Spherally® »Spher-a-caps«, Charge-Nr.: 413 763 070. Kerr Sybron Corp. Romulus, MI 48174 (USA).

³ Amalcap® Non- γ -2 Degussa Luxalloy® Special, Charge-Nr.: 090 277 412. Vivadent, Schaan/Liechtenstein.

⁴ Compocap® Charge-Nr.: 010 277 425 und 160 377 457. Vivadent, Schaan/Liechtenstein.

⁵ Isopast® Charge-Nr.: (Base): 030 577. Charge-Nr.: (Katalysator): 060 577, Vivadent, Schaan/Liechtenstein.

⁶ Fa. Kleinfeld, Hannover, Leisewitzstr. 47.

⁷ Sprague-Dawley-Stamm, 180–200 g, Süddeutsche Versuchstierfarm, Tuttlingen, Oberer Bann 37.

I = keine oder wenige verstreute Entzündungszellen
 II = gerade noch zählbar viele Entzündungszellen
 III = unzählbar viele Entzündungszellen, Zellaggregation und/oder Gewebenekrosen

Weiterhin wurden der Vaskularisationsgrad durch Auszählen der im Reaktionshof befindlichen Gefäße und die Ausdehnung des Reaktionshofes bestimmt.

Die Ergebnisse der Zellauswertung wurden statistisch nach dem χ^2 -Test, der Einfluß der Alterungszeit auf die Toxizität mittels Analyse auf Trend [5] geprüft. Die Ergebnisse der Bestimmung des Vaskularisationsgrades und der Größe des Reaktionshofes wurden einer Varianzanalyse, dem Scheffé-Test und dem LSD-Test unterzogen.

Ergebnisse

1. Histologie

Die Gewebereaktion an der Längsseite des Teflonröhrchens (negative Kontrolle) zeigt eine bindegewebige Einscheidung mit nur wenigen oder keinen Entzündungszellen (Abb. 1). Allerdings scheint die zelluläre Reaktion von der Form des Prüfkörpers abhängig zu sein. An der Außenseite eines halbierten und ohne Prüfsubstanz implantierten Teflonröhrchens ist eine entzündungsfreie Einscheidung mit Kapselbildung und langgezogenen Fibrozyten, an der Innenseite hingegen eine dünne Schicht von Entzündungszellen erkennbar.

Das γ -2-phasesfreie Amalgam (Abb. 2) ruft wie auch konventionelles Amalgam (Abb. 3) bei kurzer Alterungszeit eine deutliche Infiltration im angrenzenden Gewebe hervor. Weder Nekrose noch schollige Anhäufung von Entzündungszellen sind erkennbar, das Gewebe erscheint organisiert. Direkt an das Material schließt sich eine Zone der Infiltration an, wobei neutrophile Leukozyten und Lymphozyten vorherrschen. Darauf folgt eine Zone der Granulationsgewebbildung, in der zwar auch vermehrt Entzündungszellen auftreten, das histologische Bild jedoch von Fibrozyten, Faserbildung und Gefäßneubildung bestimmt wird. Die Zone der Infiltration ist in manchen Präparaten von derjenigen der Granulationsgewebbildung losgelöst (Abb. 3). Dieser Artefakt ist ein Hinweis dafür, daß Gewebe an der Kontaktstelle zum Testmaterial durch die Entfernung des Implantates in Verlust geraten kann, somit der histologischen Auswertung nicht mehr zur Verfügung steht und falsche Ergebnisse

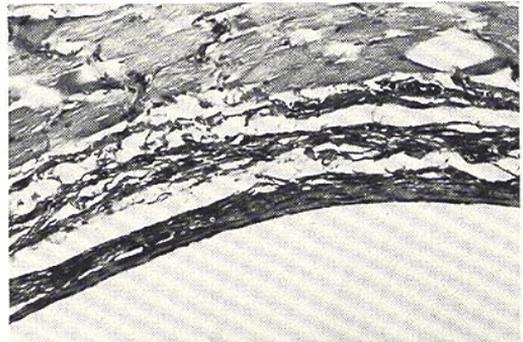


Abb. 1. Reaktion auf Teflonkontrolle: entzündungszellfreie bindegewebige Einscheidung. Vergr. 180:1.

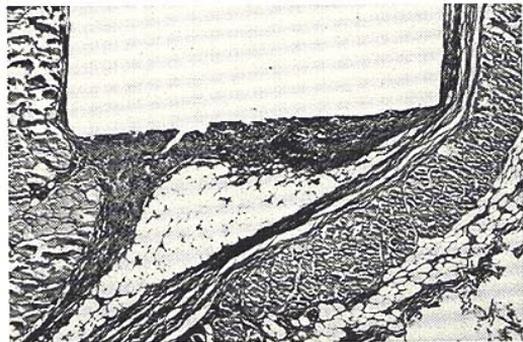


Abb. 2. Reaktion auf γ -2-phasesfreies Amalgam, 10 min Alterungszeit: Reaktionszone mit mäßiger Zellinfiltration (Reaktionsgrad 2). Vergr. 23:1.

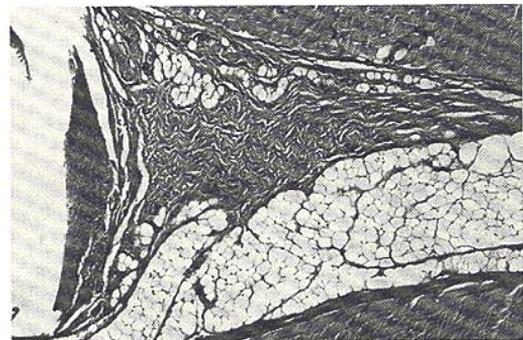


Abb. 3. Reaktion auf Feinspan-Amalgam, 10 min Alterungszeit: Reaktionszone mit mäßiger Zellinfiltration (Reaktionsgrad 2). Vergr. 23:1.

die Folge sind. Bei den langen Alterungszeiten treten an der Kontaktstelle zum Testmaterial langgestreckte Fibrozyten und nur wenige Entzündungszellen auf, obwohl ein deutlich erkenn-

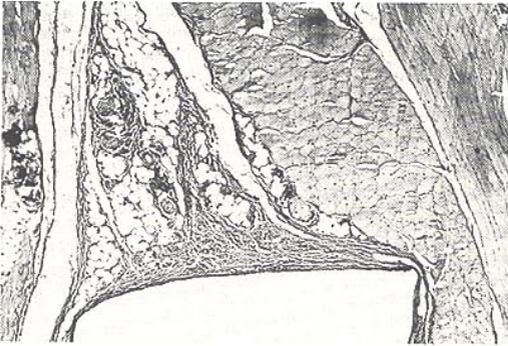


Abb. 4. Reaktion auf Kugelamalgam, 7 Tage Alterungszeit: Reaktionszone ohne deutliche Zellinfiltration, jedoch mit Granulationsgewebebildung (Reaktionsgrad 1). Vergr. 22:1.

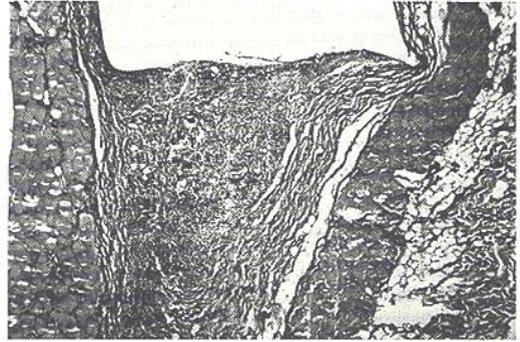


Abb. 6. Reaktion auf das Makrofüller-Komposit, 10 min Alterungszeit. Reaktionszone mit mäßiger Infiltration (Reaktionsgrad 2). Vergr. 185:1.

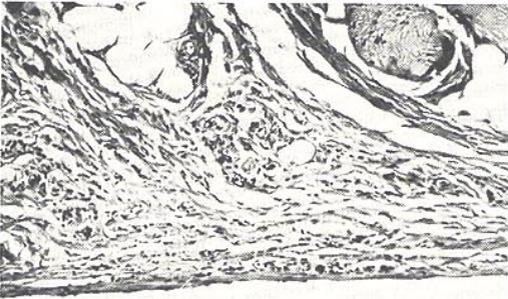


Abb. 5. Ausschnittvergrößerung aus Abb. 4. Vergr. 92:1.

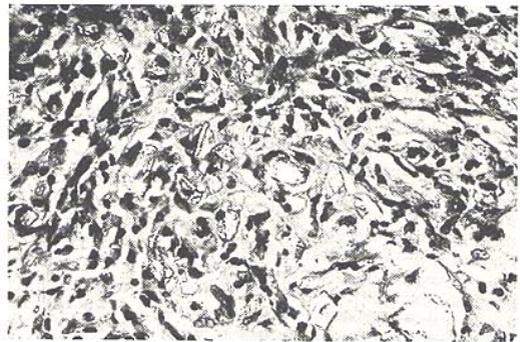


Abb. 7. Ausschnittsvergrößerung von Abb. 6: im Gewebe verstreute Materialpartikel. Vergr. 180:1.

barer Reaktionshof aus Granulationsgewebe vorliegt (Abb. 4, 5).

Nach Implantation der Composite ist im histologischen Bild eine Trennung zwischen Infiltrationsgebiet und angrenzendem Granulationsgewebe nicht vorhanden. Insgesamt wird das Gebiet des Reaktionshofes jedoch in größerem Ausmaß als bei den Amalgamen von Fibroblasten beherrscht (Abb. 6).

Charakteristisch und bestimmend für das histologische Bild ist sowohl bei mikro- als auch bei makrogefüllten Kompositen das Vorhandensein von Materialpartikelchen im Gewebe (Abb. 7), die z.T. von Fremdkörperzellen umschlossen sind. Als besonders gewebeverträglich erwies sich das Material Isopast (Abb. 8).



Abb. 8. Reaktion auf das Mikrofüller-Komposit, 1 Tag Alterungszeit. Reaktionszone ohne Infiltration mit geringer Granulationsgewebebildung (Reaktionsgrad 1). Vergr. 23:1.

Tabelle 1. Ergebnisse der Zellauswertung, 10 min Alterungszeit (Kontingenz-Tafel).

Material	Häufigkeit d. beobacht. Reaktionen		
	I	II	III
Non- γ -2-Am.	1	39	0
Feinspan-Am.	6	34	0
Kugel-Am.	8	32	0
Makrofüller-Komp.	16	24	0
Mikrofüller-Komp.	32	8	0

2. Auswertung

Makroskopisch war bei keinem Material eine Reaktion erkennbar. Die Ergebnisse der Zellauswertung bei 10 min Alterungszeit (Tab. 1) zeigen, daß Amalgame anfänglich generell toxischer sind als Kompositen. Der Unterschied in der Toxizität zwischen γ -2-phasenfreien und herkömmlichen Amalgamen läßt sich statistisch ($\alpha = 0,05$) nicht sichern. Hingegen verhält sich der mikrogefüllte Kunststoff signifikant ($\alpha = 0,01$) weniger toxisch als der makrogefüllte.

Bei 1 Stunde Alterungszeit (Tab. 2) hat die Toxizität der Amalgame insgesamt nachgelassen. Gleiches gilt bei den Kompositen für das makrogefüllte Material. Das mikrogefüllte blieb in seinem biologischen Verhalten unverändert. Der Unterschied zwischen dem γ -2-phasenfreien Amalgam und dem mikrogefüllten Kunststoff ist signifikant ($\alpha = 0,05$). Ansonsten besteht kein statistischer Unterschied bei dieser Alterungszeit.

Nach einem Tag (Tab. 3) zeigen die Amalgame nur noch eine geringe Toxizität. Das Kugelamalgam bewirkt gegenüber den beiden anderen eine statistisch signifikant geringere Reaktion ($\alpha = 0,05$). Auch bei dem makrogefüllten Komposit hat die Toxizität weiter nachgelassen und entspricht derjenigen des mikrogefüllten.

Die Ergebnisse nach 7tägiger Alterung (Tab. 4) lassen beim Amalgam den Trend erkennen, daß das γ -2-phasenfreie Material geringfügig toxischer ist als die konventionellen. Auch das makrogefüllte Komposit scheint eine leicht höhere Toxizität aufzuweisen als das mikrogefüllte. Jedoch ist in dieser Tabelle statistisch kein Unterschied nachweisbar ($\alpha = 0,05$).

Bei der Auswertung des Reaktionshofes (Tab. 5) erscheinen – insbesondere bei den kurzen Alterungszeiten – die Amalgame geringfügig toxischer als die Kompositen. Innerhalb der Gruppe

Tabelle 2. Ergebnisse der Zellauswertung, 1 Std. Alterungszeit (Kontingenz-Tafel).

Material	Häufigkeit d. beobacht. Reaktionen		
	I	II	III
Non- γ -2-Am.	12	28	0
Feinspan-Am.	24	16	0
Kugel-Am.	16	24	0
Makrofüller-Komp.	24	16	0
Mikrofüller-Komp.	30	10	0

Tabelle 3. Ergebnisse der Zellauswertung, 1 Tag Alterungszeit (Kontingenz-Tafel).

Material	Häufigkeit d. beobacht. Reaktionen		
	I	II	III
Non- γ -2-Am.	24	16	0
Feinspan-Am.	23	17	0
Kugel-Am.	36	4	0
Makrofüller-Komp.	32	8	0
Mikrofüller-Komp.	34	6	0

Tabelle 4. Ergebnisse der Zellauswertung, 7 Tage Alterungszeit (Kontingenz-Tafel).

Material	Häufigkeit d. beobacht. Reaktionen		
	I	II	III
Non- γ -2-Am.	24	16	0
Feinspan-Am.	32	8	0
Kugel-Am.	34	6	0
Makrofüller-Komp.	24	16	0
Mikrofüller-Komp.	30	10	0

* = Mittelwert; Standardabweichung in Klammern.

Tabelle 5. Ergebnisse der Ausmessung des Reaktionshofes, Relativwerte im Meßokular bei 40facher Vergrößerung.

Material	Reaktionshof:			
	5 min	1 Std	1 Tag	7 Tage
Amalcap	3,89 (1,87)*	3,33 (1,14)	3,04 (1,54)	2,77 (1,11)
Spher-a-cap	3,34 (2,53)	2,81 (1,85)	2,77 (1,64)	3,11 (1,41)
Non- γ -2	4,28 (2,64)	3,99 (1,25)	3,56 (1,85)	2,67 (1,22)
Composcap	2,62 (3,01)	2,16 (1,47)	3,64 (2,65)	3,97 (1,31)
Isopast	2,51 (1,51)	2,80 (2,05)	2,19 (1,28)	2,44 (1,45)

der Amalgame zeigt, mit Ausnahme der sieben-tägigen Alterungszeit, das γ -2-phasenfreie Material die Tendenz einer größeren Ausdehnung des Reaktionshofes. Eine Abnahme der Größe des Reaktionshofes mit zunehmender Liegezeit ist bei den Amalgamen erkennbar.

Tabelle 6. Ergebnisse der Auswertung des Vaskularisationsgrades, Zahl der angeschnittenen Gefäße im gesamten Reaktionshof.

Material	5 min	Vaskularisationsgrad:		
		1 Std	1 Tag	7 Tage
Amalcap	16,97 (10,69)*	28,97 (9,14)	15,67 (6,05)	14,73 (6,44)
Spher-a-cap	14,97 (5,51)	14,60 (6,44)	21,27 (6,88)	20,47 (7,44)
Non- γ -2	22,73 (8,40)	29,43 (4,45)	19,53 (6,13)	17,03 (5,39)
Compopac	15,03 (6,34)	15,53 (6,00)	17,40 (5,47)	24,83 (8,40)
Isopast	12,40 (4,88)	16,30 (5,05)	16,63 (8,39)	16,33 (7,36)

* = Mittelwert; Standardabweichung in Klammern.

Tabelle 7. Ergebnisse der Analyse auf Trend für das γ -2-freie Amalgam.

Quelle der Variation	Freiheitsgrade	χ^2	Irrtumswahrscheinlichkeit
Lineare Regression	1	34,8	$4,2 \cdot 10^{-9}$
abweichend davon	5	4,1	0,5
Gesamtvariation	6	38,9	$7,6 \cdot 10^{-7}$

Tabelle 8. Ergebnisse der Analyse auf Trend für das mikrogefüllte Komposit.

Quelle der Variation	Freiheitsgrade	χ^2	Irrtumswahrscheinlichkeit
Lineare Regression	1	0,03	0,9
abweichend davon	5	1,6	0,9
Gesamtvariation	6	1,6	0,9

Die Varianzanalyse ergab zwar ein knapp über dem kritischen F-Wert ($\alpha = 0,05$) liegendes Ergebnis, die Auswertung des Scheffé-Testes und des LSD-Testes zeigte jedoch keine relevanten Unterschiede.

Die Bestimmung des Vaskularisationsgrades (Tab. 6) ergibt ein uneinheitliches Bild. Das makrogefüllte Komposit bewirkt eine höhere Vaskularisation als das mikrogefüllte, jedoch ließ sich zwischen den einzelnen Behandlungen statistisch kein Unterschied sichern ($\alpha = 0,05$).

Der Einfluß der Alterungszeit auf die Materialtoxizität konnte unter Zugrundelegung der Zellauswertung bei den Amalgamen eindeutig, bei den Kompositen jedoch nicht nachgewiesen werden (Tab. 7 und 8).

Eine Korrelationsrechnung zwischen den einzelnen Parametern erschien nicht sinnvoll, da bei

der Auswertung des Reaktionshofes und des Vaskularisationsgrades keine signifikanten Unterschiede auftraten.

Diskussion

1. Prüfmateriale

Die anfängliche, mit zunehmender Liegezeit nachlassende Toxizität von Amalgam steht in Einklang mit Ergebnissen ähnlicher In-vivo-Untersuchungen [12, 17 u. a.], bei denen sowohl die Alterungszeit [17], in den meisten Fällen jedoch die Liegezeit im Gewebe [12] variiert wurde. Nach Implantation derartiger Materialien laufen verschiedene Prozesse nebeneinander ab. Das Operationstrauma selbst spielt 14 Tage nach der Implantation keine wesentliche Rolle mehr. Das Gewebe reagiert jedoch sowohl auf die jeweils augenblickliche Toxizität als auch auf die Zellerfallsprodukte, die durch vorangegangene erhöhte Materialgiftigkeit entstanden sind. Da sich beide Gewebereaktionen histologisch u. U. nur schwer voneinander trennen lassen [14], halten wir es zur biologischen Charakterisierung eines Prüfmateriale für erforderlich, nicht nur die Liegezeit der Probe im Gewebe, sondern – falls es sich um abbindende Werkstoffe handelt – auch die Alterungszeit vor der Implantation anzugeben. Diese Zeitspanne sollte variiert und so gewählt werden, daß – wenn technisch möglich – ein Toxizitätsprofil über die Abbindezeit erstellt werden kann.

Als Ursache für die anfängliche Toxizität des Amalgams sind ausgelaugte Metallionen anzusehen. Obwohl ein erhöhter Quecksilbergehalt der Mischung in vitro zu einer erhöhten Toxizität führte [7], konnte Leirskar [9] in Eluat von Amalgam Hg nur in sehr kleinen Mengen nachweisen, so daß andere aus dem Amalgam ausgelaugte Ionen ebenfalls für die Reaktion verantwortlich gemacht werden müssen. Auch die zwar geringe, aber dennoch deutlich erhöhte Toxizität des γ -2-phasesfreien Materials steht in Einklang mit anderen Publikationen [12, 17]. Über eine vermehrte Auslaugung von Kupfer-Ionen aus solchen Amalgamen wurde berichtet [4]. Das Nachlassen der Toxizität kann durch den Abbindevorgang oder durch Bildung einer passivierenden Deckschicht aus AgCl, Zinnoxchlorid oder Metallsulfiden erklärt werden [16].

Auch am Patienten rief Amalgam bei tiefen Kavitäten eine anfängliche Pulpaschädigung hervor, die jedoch mit der Zeit ausheilte [13]. Allerdings muß auch die Verarbeitung (Kondensationsdruck) als Ursache in Betracht gezogen werden.

Die in der vorliegenden Untersuchung bei auch vollständig erhärtetem Amalgam in einigen Fällen beobachtete Gewebeschädigung steht teilweise im Widerspruch zur klinischen Erfahrung.

Eine geringfügig höhere Toxizität eines γ -2-phasesfreien Amalgams konnte auch in tiefen Kavitäten an Affenzähnen nachgewiesen werden [18]. Dies spielt jedoch in Anbetracht des therapeutischen Wertes der neuen Amalgame [10] klinisch bei der Füllungstherapie keine Rolle, da am Patienten in solchen Fällen immer eine Unterfüllung appliziert wird.

Auch bei den Kompositen ergibt sich eine gute Übereinstimmung der vorliegenden Ergebnisse mit solchen anderer Implantationstests [17]. Die Ausschwemmung von Füllungspartikeln hat wahrscheinlich ihre Ursache in der schlechten Oberflächenpolymerisation (Sauerstoffhemmung). Eine Biodegradation wäre denkbar, kann aber durch den vorliegenden Versuch nicht nachgewiesen werden.

Auch in Anwendungsprüfungen [8, 15] waren mikrogefüllte Materialien weniger pulpairritierend als makrogefüllte.

2. Prüfmethode

Die von *Autian* und *Dillingham* [3] aufgestellten Forderungen an einen standardisierten Toxizitätstest werden insofern erfüllt, als es sich um ein schnelles, unkompliziertes Verfahren handelt, alle benötigten Komponenten kommerziell erhältlich und die Ergebnisse reproduzierbar sind. Die Verwendung von Teflonröhrchen hat den Vorteil, daß die Kontaktfläche des Prüfmaterials zum Gewebe festgelegt ist. Mit dieser Methode können auch weiche Werkstoffe geprüft und die Gewebereaktion auf Test- und negatives Kontrollmaterial nebeneinander ausgewertet werden. Allerdings läßt sich die Gewebereaktion an der Längsseite eines Prüfkörpers nicht ohne weiteres mit derjenigen am Ende desselben gleichsetzen. Eine geringe zelluläre Infiltration, insbesondere wenn sie allein an den teilweise scharfen, ggf.

unterfüllten Kanten des Teflonröhrchens auftritt, ist u. U. nicht materialbezogen.

Die von *Autian* und *Dillingham* [3] geforderte statistische Analyse der Ergebnisse ist bei den drei verwandten und in der Literatur empfohlenen Auswertungskriterien möglich. Jedoch traten bei der Ausmessung des Reaktionshofes sowie der Bestimmung des Vaskularisationsgrades derart große Streubreiten der Ergebnisse auf, daß ein Unterschied zwischen den einzelnen Materialien statistisch nicht nachweisbar war, obwohl diese durchaus eine unterschiedliche Toxizität besitzen [17].

Es besteht zudem die Schwierigkeit der Abgrenzung von oftmals spindelig in Gewebsspalten hineinverlaufende Reaktionszonen. Wir halten daher eine gradierende Auswertung, basierend auf Zellen akuter und chronischer Entzündung (vgl. FDI-Richtlinien [19]) für geeigneter. Besonderheiten im histologischen Bild, welche durch dieses Schema nicht erfaßt werden, wie z. B. die Ausschwemmung von Werkstoffkomponenten, sind zusätzlich zu protokollieren [14].

Im Vergleich zum intramuskulären Implantationstest am Kaninchen, welcher ebenfalls als Standardverfahren vorgeschlagen wurde [17], ist die Reaktion des subkutanen Rattengewebes auf Amalgame weniger ausgeprägt. Das Rangfolgeverhalten von dem am wenigsten bis zum toxischsten Material ist jedoch vergleichbar.

Ein technisches Problem stellt das Fehlen einer positiven Kontrolle dar, was eine standardisierte Auswertung gerade bei einem gradierenden Bewertungsschema erschwert. Eine weitere Schwierigkeit besteht in der Entnahme des Implantats mit der Gefahr des Gewebeverlustes. *Olsson* et al. [14] empfehlen deshalb das Belassen der Proben im Gewebe, was jedoch ohne Beschädigung des Mikrotommessers nur bei weichen Prüfmaterialien möglich ist. Wir haben daher die Proben erst nach Paraffin-Einbettung entfernt, da das Paraffin das Gewebe stützt und somit die Gefahr des Gewebeverlustes verringert wird, ohne jedoch vollkommen ausgeschlossen zu sein. Die letzte von *Autian* und *Dillingham* an einen Toxizitätstest gestellte Forderung, nämlich nach der definierten Beziehung zum Anwendungstest und zum Menschen muß a priori mit Zurückhaltung bewertet werden, da die Ursache einer Gewebsschädigung im Toxizitätstest hauptsächlich die Giftigkeit des Prüfmaterials ist, im An-

wendungstest und am Patienten andere Faktoren jedoch eine wesentliche Rolle spielen [16]. In vielen Fällen sind die vorliegenden Ergebnisse mit Reaktionen der Zahnpulpa vergleichbar, obwohl durchaus Diskrepanzen auftraten. Im Rangfolgeverhalten lassen sich Parallelen erkennen. Die verwandte Prüfmethode sollte daher nur im Rahmen einer relativen Toxizitätsanalyse zum Vergleich nahe miteinander verwandter Materialien (z.B. verschiedener Amalgame) eingesetzt werden. Man erhält dabei eine biologische Basisinformation, ähnlich einer physikalischen Materialkonstante.

Anwendungstests an höheren Versuchstieren können und sollen durch einen solchen Test nicht ersetzt werden. Gleichwohl kann durch eine sinnvolle, d.h. der Limitation des verwandten Modells rechnungstragenden Versuchsanordnung und Interpretation der Ergebnisse unter Abwägung des therapeutischen Wertes eines neuen Werkstoffes die Entscheidung, ob weitere, kostspielige, aufwendige und zeitraubende Prüfungen erforderlich sind, erleichtert werden.

Für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung sind wir Herrn Dipl.-Phys. D. Lukas, Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Universität Tübingen, sehr dankbar.

Summary

In the subcutaneous implantation test in rats - as recommended by the FDI - 3 different amalgams, implanted after a short aging time (10 min to 1 hr), produced a tissue reaction. This reaction became markedly weaker with increasing aging time prior to implantation (1 to 7 days). The slightly higher toxicity of the γ -2-phase-free amalgam as compared to the conventional amalgams was without statistical significance. With short aging times, composites led to a weaker tissue reaction than did amalgams. However, after 7 days no differences could be detected. The present results are in general agreement with clinical experience, though some discrepancies were seen. The method employed can and should not replace usage tests, but rather should provide basic biological information, comparable to the physical testing of materials. It should also, in the manner of relative toxicity tests, permit comparison of closely related materials. In principle, the procedure seems to be suitable for this purpose, although some technical problems still remain to be solved.

Schrifttum

1. American Dental Association - American National Standards Institute: American Dental Association Doc. No 41 for recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. J. Amer. dent. Ass. 99, 697 (1979).
2. Arbeitsgemeinschaft der leitenden Medizinalbeamten der Länder: Aktenzeichen 710-4-289-486/79, 1979.
3. Autian, J. and Dillingham, E. O.: Overview of general toxicity testing with emphasis on special tissue culture tests. In: Berky, J. and Sherrod, C.: In vitro toxicity testing 1975-1976. The Franklin Institute Press, Philadelphia/USA 1978, p. 21.
4. Espevic, S.: The effect of Cu addition on the corrosion of amalgam. J. dent. Res. 56, Suppl. A, Abst. No 237 (1977).
5. Everitt, B. S.: The analysis of contingency tables. Chapman and Hall, London 1977, p. 39, 63.
6. Fachnormenausschuß Dental (DIN), 7530 Pforzheim, Westliche 51.
7. Kawahara, H., Nakamura, M., Yamagami, A. and Nakanishi, T.: Cellular response to dental amalgam in vitro. J. dent. Res. 54, 384 (1975).
8. Klötzer, W. T., Rosendahl, R. und Riethe, P.: Komposit-Füllungsmaterialien im Tierversuch. Dtsch. zahnärztl. Z. 32, 367 (1977).
9. Leirskar, J.: On the mechanism of cytotoxicity of silver and copper amalgam in a cell culture system. Scand. J. dent. Res. 82, 74 (1974).
10. Mahler, D. B., Marantz, R. L. and Engle, J. H.: A predictive model for the clinical marginal fracture of amalgam. J. dent. Res. 59, 1420 (1980).
11. Mitchell, D. F.: The irritational qualities of dental materials. J. Amer. dent. Ass. 59, 954 (1959).
12. Mjör, J. A., Eriksen, H. M., Haugen, E. and Skogedal, O.: Biologic assessment of copper-containing amalgams. Int. dent. J. 27, 333 (1977).
13. Möller, B.: Reaction of the human dental pulp to silver amalgam restorations. Acta odont. scand. 33, 233 (1975).
14. Olsson, B., Slikowski, A. and Langeland, K.: Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. J. Endodont. 7, 355 (1981).
15. Riethe, P., Rotgans, J. und Schmalz, G.: Tierexperimentelle Prüfungen mit einem neuen Füllungsmaterial (Isocap). Dtsch. zahnärztl. Z. 33, 609 (1978).
16. Schmalz, G.: Die Gewebeverträglichkeit zahnärztlicher Materialien - Möglichkeiten einer standardisierten Prüfung in der Zellkultur. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1981, p. 11, 24, 32.
17. Schmalz, G. und Schmalz, Chr.: Toxicity testing on dental filling materials. Int. dent. J. 31, 185 (1981).
18. Skogedal, O. and Mjör, J. A.: Pulpal response to dental amalgams. Scand. J. dent. Res. 87, 346 (1979).
19. Stanford, J. W.: Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. Int. dent. J. 30, 140 (1980).
20. Welker, D., Katenkamp, D. und Neupert, W.: Bindegewebsreaktionen nach Implantation von Composite-Füllungsmaterial und Silikatcement. Dtsch. zahnärztl. Z. 32, 533 (1977).

Anschrift der Verfasser: Priv.-Doz. Dr. G. Schmalz, Osianderstr. 2-8, D-7400 Tübingen;
Dr. H.-J. Bühler, Konrad-Adenauer-Str. 52, D-7407 Rottenburg.