文章编号:1000-5404(2012)17-1797-03

论著

不同银汞粘接剂修复根面龋的细菌学和微渗漏研究

彭志庆[1],单春城[1],刘明方[2],魏信汉[1] (402160 重庆,重庆医科大学附属永川医院口腔科[1];400016 重庆,重庆医科大学实验教学中心[2])

[摘要] **目的** 比较不同的银汞粘接剂修复根面龋的充填体边缘细菌学和微渗漏情况。**方法** 将制备洞型后的100颗离体牙按随机数字表法分为5组(银汞充填组、树脂加强型玻璃离子联合银汞合金组、玻璃离子组、全酸蚀粘接剂联合银汞合金组、自酸蚀粘接剂联合银汞合金组)材料充填,进行细菌培养并菌落计数,染色法观察微渗漏,并进行统计学分析。**结果** 5组材料的细菌学和微渗漏实验结果间差异具有统计学意义($P<0.05$),树脂加强型玻璃离子组细菌数量和微渗漏显著少于其他组,其次分别为全酸蚀粘接剂组、自酸蚀粘接剂组、玻璃离子组,银汞合金组则最为严重。**结论** 用树脂加强型玻璃离子作银汞合金粘接修复的粘接剂能更有效地预防继发龋和充填物脱落。

[关键词] 银汞合金粘结修复;银汞合金;根面龋;微渗漏
[中图法分类号] R783.1 [文献标志码] A

Microbiology and microleakage of root surface caries restored with different silver-mercury fillings: an *in vitro* study

Peng Zhiqing[1], Shan Chuncheng[1], Liu Mingfang[2], Wei Xinhan[1] ([1]Department of Stomatology, Affiliated Yongchuan Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 402160; [2]Center of Experimental Teaching, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] Objective To compare the abilities of different adhesive materials to prevent bacteria and microleakage in silver-mercury bonded amalgam restorations of the root surface caries. Methods One hundred isolated teeth with cavity preparation were randomly divided into 5 groups, with 20 teeth in each group filled with 5 different materials (Amalgam, Amalgam &resin-modified glass-ionomer cement, glass-ionomer cement, Amalgam &total-etch adhesive cement, and Amalgam &self-etch adhesive cement). Each tooth was then evaluated the bacteria and microleakage by colony counting and staining. Results There were significant differences in the results of bacteria and microleakage among the 5 groups ($P<0.05$). The Amalgam & resin-modified glass-ionomer cement showed the lowest amount of bacteria and incident of microleakage, the highest occurrence was Amalgam, followed by Amalgam &total-etch adhesive cement, Amalgam &self-etch adhesive cement and glass-ionomer cement. Conclusion Resin-modified glass-ionomer cement can well prevent secondary caries and filling material from being broken off.

[**Key words**] boned amalgam restoration; amalgam; root decay; microleakage

Corresponding author: Shan Chuncheng, E-mail: jackyshan@126.com

根面龋好发于根面近颈缘处,易片状剥脱或围绕牙根形成环状龋,严重时可使牙冠折断。由于根面龋充填时隔湿效果不好,特别是在龈下区和根分叉、冠周根面等难以获得入路的部位,因此如何选择充填材料是根面龋充填中的难题。银汞合金粘接修复技术的应用表明,运用粘接材料可加强被削弱的牙齿并支撑被破坏的釉质,并可减少磨切过多的牙体组织,顺应了近年来微创牙科的理念[1]。本研究通过比较银汞合金、玻璃离子、树脂加强型玻璃离子联合银汞合金、自酸蚀粘接剂联合银汞合金、全酸蚀粘接剂联合银汞合金对充填体洞缘及充填体与洞壁间的细菌数量和微渗漏程度,为临床选择修复根面龋的最佳充填方法和充填材料提供实验依据。

[通信作者] 单春城,E-mail:jackyshan@126.com

1 材料与方法

1.1 实验菌株及材料、设备

变形链球菌(S. mutans ATCC 25175,四川大学华西口腔医学院生物医学工程教育部重点实验室),MSB(mitis-salivarius bacitracin agar)固体培养基,胰蛋白酶消化大豆(TSB)液体培养基(杭州天和微生物试剂有限公司),10 g/L 亚甲基蓝(上海试剂厂)。GC Fuji Ⅱ LC(日本),GC Fuji Ⅱ(日本),RelyX Adhesive Resin Cement(3M 美国),35% 磷酸凝胶酸(贺利氏古莎齿科有限公司),RelyX Unicem(3M ESPE,美国)。冷热循环仪(Tc-501F 苏州威尔实验用品公司)。

1.2 实验样本及分组

选择100颗本科新鲜拔除的前磨牙冷藏储存备用。游标卡尺精确测量各组样本牙冠部颊舌径和近远中径,单因素方差分析示各组间样本牙在尺寸方面差异无统计学意义($P>0.05$)。随机数字表法分成5组,A组:银汞合金充填组(Am组);B组:树脂加强型玻璃离子联合银汞合金组(GC Fuji Ⅱ LC组,简称LC组);C组:玻璃离子组(GC Fuji Ⅱ组,简称GC组);D组:全酸蚀粘接剂联合银汞合金组(RelyX ARC组,简称ARC组);E组:自酸蚀粘接剂联合银汞合金组(RelyX Unicem组,简称Unicem组),每组20个标本。

1.3 方法[2]

1.3.1 细菌培养和致龋菌液制备 将冻干保存的菌种S. m接种于MSB培养基中,37 ℃微需氧活化培养48 h(900 ml/L N_2,100 ml/L CO_2)经革兰染色镜检及生化鉴定为变形链球菌,将其接种于TSB培养液中培养24 h,再转移至含10 g/L蔗糖的TSB培养液中连续传代1周,每24小时为1代。采用麦氏比浊法用含10 g/L蔗糖的TSB培养液配制成细菌浓度为10^6 CFU/ml的致龋菌液。

1.3.2 样本的制备 离体牙清洗灭菌,浸泡于生理盐水中备用。裂钻切割根尖孔并拔除牙髓,树脂封闭根尖孔。在釉牙骨质界处制备深2 mm,宽(冠根向)2 mm,长(近远中向)4 mm大小的洞型,吹干标本。

1.3.3 粘接剂处理及充填 5组粘接剂处理和充填严格按照厂家提供的说明书标准程序进行操作,于充填24 h后进行充填体抛光。所有样本充填48 h后在5 ℃和55 ℃生理盐水中进行冷热循环,水浴各30 s,共循环200次。然后在距离充填体边缘1 mm外的所有牙面均匀涂布2层指甲油,待其完全干燥后在紫外灯下照射24 h。将所有样本悬吊于致龋菌液中,置厌氧罐(900 ml/L N_2,100 ml/L CO_2)中37 ℃恒温孵育,每48小时更换1次致龋菌液,共孵育30 d。在整个致龋过程中每2天检验1次菌液以确定无污染。

1.3.4 细菌检测 致龋结束后,每组随机抽取10个样本用无菌探针刮取充填体边缘的菌斑样物质,并将牙齿纵剖去除充填体后,用无菌探针刮取洞壁上的软化牙体组织,分别立即置含有1 ml TSB的无菌EP管中,在旋涡混合器上震荡30 s,分散均匀后,以10倍系列稀释法将TSB培养液稀释至原始浓度的10^{-5},吸取样本液50 μl分别接种于MSB平板上,置厌氧箱中培养48 h,取出培养皿进行活菌计数,结果用菌落形成单位CFU(clone forming unit)表示。

1.3.5 边缘微渗漏检测 各组剩余的10个样本置10 g/L亚甲基蓝液中浸泡4 h后,沿颊舌方向经充填体中央劈开,体式显微镜下观察并记录窝洞牙合壁方向微渗漏的程度。评定标准:0级,没有染料渗入;1级,染料沿着洞壁渗入,深度不超过1/3牙合壁;2级,染料沿着洞壁渗入,深度不超过2/3牙合壁;3级,染料沿着洞壁渗入,深度平齐洞底;4级,染料渗入累及髓腔。

1.4 统计学分析

使用SPSS 17.0统计软件,活菌数CFU取对数后将lg CFU用$\bar{x}\pm s$表示,分别采用单因素方差分析,两两比较LSD法;Kruskal-Wallis检验($\alpha=0.05$)。

2 结果

5组充填体边缘以及充填体与洞壁间不同采样部位的细菌菌落数量、微渗漏程度均以GC Fuji Ⅱ LC组较低,差异有统计学意义($P<0.05$);其次分别为RelyX ARC组、RelyX Unicem组、GC Fuji Ⅱ组,Am组则最为严重。见表1、2。

表1 5组洞缘以及充填体-洞壁间细菌数量参数比较($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	洞缘	充填体-洞壁
Am组	5.653±0.009	9.911±0.009
LC组	2.039±0.009^{abcd}	4.006±0.013^{abcd}
GC组	4.528±0.016^{a}	7.920±0.012^{a}
ARC组	3.006±0.117^{abc}	5.329±0.013^{abc}
Unicem组	3.858±0.134^{ab}	6.818±0.011^{ab}

a:$P<0.05$,与Am组比较;b:$P<0.05$,与GC组比较;c:$P<0.05$,与Unicem组比较;d:$P<0.05$,与ARC组比较

表2 5组充填体的微渗漏级别比较(个,$n=10$)

组别	微渗漏级别				
	0级	1级	2级	3级	4级
Am组	0	0	0	7	3
LC组^{abcd}	3	7	0	0	0
GC组^{a}	0	2	4	3	1
ARC组^{abc}	1	6	3	0	0
Unicem组^{ab}	0	5	3	2	0

a:$P<0.05$,与Am组比较;b:$P<0.05$,与GC组比较;c:$P<0.05$,与Unicem组比较;d:$P<0.05$,与ARC组比较

3 讨论

根面龋是老年口腔的常见病、多发病,尤其是口腔卫生较差的老年患者,修复龈下根面龋时很难避免局部出血和唾液污染,导致充填后易出现继发龋,而常见的隔湿技术和橡皮障、排龈等对部分高龄患者并不适用,由于光固化灯光难以穿透至龈袋,因此对于根面龋多选用银汞合金或玻璃离子。而单纯使用银汞合金需较多磨除牙体组织,易产生边缘微渗漏[5]。玻璃离子与牙体硬组织的粘接以化学粘接为基础,当与龈沟液、水等接触时,引起吸水膨胀或当失水收缩甚至龟裂等,

影响了玻璃离子的粘接效果。近年来,银汞合金粘接修复术被应用于临床,该项技术要求在备洞时仅需去除龋坏组织,不要求做固位形,有助于保存牙体组织;且使用粘接剂,降低了银汞合金充填体与牙体组织间的微渗漏,减少了术后敏感及继发龋的产生。但临床上银汞合金粘接修复术所使用的粘接材料种类较多,因此我们通过对树脂加强型玻璃离子粘接剂、全酸蚀粘接剂和自酸蚀粘接剂应用于银汞合金粘接修复的实验,来寻找一种有效的粘接材料。

国外大多数文献报道变形链球菌是根面龋的主要致病菌[4],也有研究者通过DNA方法检测出根面龋的皮革样病损及表面菌斑中存在双歧杆菌[3],而根面龋菌随着年龄的增长、机体免疫变化和唾液量减少等而变化[6],因此本实验采用大多数文献报道的变形链球菌作为人工致龋菌。选择的染料渗漏法是国内外研究微渗漏最常用的方法[7],并用最常用的等级划分法来评估染料渗漏情况。结果显示树脂加强型玻璃离子组在不同部位采集的细菌菌落数均少于其他组,这可能是由于树脂加强型玻璃离子可以释放有抑菌性的氟化物和铝等,从而干扰变形链球菌的生长,减少了细菌数量[8]。本研究中,与其他组别相比,树脂加强型玻璃离子组阻止染料渗透的效果最好。这同Cenci等[9]的研究结果相似,树脂加强型玻璃离子做银汞合金粘接修复的粘接剂具有较强的防微渗漏性能,树脂加强型玻璃离子与牙髓组织有良好的生物相容性;在玻璃离子与牙本质的交界处,可通过离子交换达到二者之间的粘接,离子的多烯链进入牙磷灰石的分子表面,代替磷酸盐离子,钙离子和磷酸盐离子平衡移植以保持电解质平衡,有了负离子层的形成,使牙本质被牢牢地封闭,从而杜绝了边缘微渗漏。全酸蚀组和自酸蚀组比较,全酸蚀组的细菌数量和微渗漏均少于自酸蚀组,树脂类粘接剂与牙体和银汞合金之间可通过微机械嵌合达到粘接的效果,但是酸蚀非常重要,这同Chen等[10]的研究结果相似。但是使用树脂粘接剂操作繁琐,增加了患者的不适,故推荐使用玻璃离子类粘接剂。玻璃离子组充填体边缘及充填体与洞壁间的细菌菌落数量、微渗漏程度均较其他3组银汞合金粘接剂组严重,这可能是因为玻璃离子做充填材料时在口腔内有一定溶解性,且在其表面易形成细菌生物膜,继而导致继发龋[11]。本研究所有组别中,充填体与洞壁间的细菌数量越多,其微渗漏越大;细菌数量越少,其微渗漏越小,微渗漏可能与继发龋的发生和发展存在相关性,这同赖光云等[2]的研究结果相似。

总之,银汞合金粘接修复术对根面龋是首选方法,使用树脂加强型玻璃离子做粘接剂减少了充填体的边缘微渗漏。银汞合金粘接修复术既保留了银汞合金的硬度和耐磨性,又具有玻璃离子那样的使充填物与牙体硬组织的粘接性,同时消除了金属充填物的传热导电性,它综合了银汞合金与复合树脂充填的优势。根面龋的发展与菌斑密切相关,而菌斑的形成需要获得性膜的形成和多种细菌参与,因此在今后的实验中将进一步研究其他致龋菌。由于本实验结果是在体外致龋模型中获得的,其确切效果可能还需临床进一步验证。

参考文献:

[1] Ngo H C, Mount G, Mc-Intyre J, *et al*. Chemical exchange between glass-ionomer restorations and residual carious dentine in permanent molars: an *in vivo* study[J]. J Dent, 2006, 34(8): 608-613.

[2] 赖光云, 李鸣宇. 体外致龋模型中两种材料充填体边缘细菌学和微渗漏的实验研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2010, 20(1): 18-20.

[3] 史宇, 刘鲁川, 温秀杰, 等. 几种银汞合金替代材料微渗漏的体外实验研究[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(16): 1496-1498.

[4] Thomas R Z, van-der-Mei H C, van-der-Veen M H, *et al*. Bacterial composition and red fluorescence of plaque in relation to primary and secondary caries next to composite: An in situ study[J]. Oral Microbiol Immunol, 2008, 23(1): 7-13.

[5] Mantzourani M, Fenlon M, Beighton D. Association between Bifidobacteriaceae and the clinical severity of root caries lesions[J]. Oral Microbiol Immunol, 2009, 24(1): 32-37.

[6] Imazato S, Ikebe K, Nokubi T, *et al*. Prevalence of root caries in a selected population of older adults in Japan[J]. J Oral Rehabil, 2006, 33(2): 137-143.

[7] Schilke R, Lisson J A, Bauss O, *et al*. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation[J]. Arch Oral Biol, 2000, 45(5): 355-361.

[8] Hayacibara M F, Rosa O P, Koo H, *et al*. Effects of fluoride and aluminum from ionomeric materials on S. mutans biofilm[J]. J Dent Res, 2003, 82(4): 267-271.

[9] Cenci M S, Piva E, Potrieh F, *et al*. Microleakage in bonded amalgam restorations using different adhesive materials[J]. Braz Dent J, 2004, 15(1): 13-18.

[10] Chen R S, Liu C C, Cheng M R, *et al*. Bonded amalgam restorations: using a glass-ionomer as an adhesive liner[J]. Oper Dent, 2000, 25(5): 411-417.

[11] 邱瑜蕾, 周学东. 玻璃离子黏固粉各成分抗菌性能的研究进展[J]. 国际口腔医学杂志, 2009, 36(6): 679-681.

(**收稿**: 2012-06-30;**修回**: 2012-08-04)

(编辑 张 维)