维普资讯 http://www.cqvip.com

临床研究 文章编号:0253-3626(2007)10-1083-04

根管治疗失败病例根管内微生物分析

王 萍[1],季 平[1],唐 明[1],张 伟[2],罗慧琼[1]

(1. 重庆医科大学附属第一医院口腔科,重庆 400016;2. 重庆市药品检验所,重庆 400015)

【摘 要】目的:通过对根管治疗失败病例根管内微生物进行培养检测,了解失败病例根管内菌群特征,为药敏试验奠定基础,为临床根管治疗提供参考。方法:选择 86 例根管治疗失败病例共 86 颗患牙,去除根管内充填物后,对根管内细菌取样,进行培养和鉴定。同时选择 25 例未经根管治疗的慢性根尖周炎病例共 25 颗患牙,对根管内细菌标本采样、培养与鉴定,结果:根管治疗失败病例根管中微生物菌群组成以兼性厌氧菌为优势菌,主要以 1~2 种革兰氏阳性菌为主,粪肠球菌是最常检出的细菌。结论:细菌与根管治疗失败密切相关,根管治疗失败病例根管内微生物组成有其特殊性。

【关键词】根管治疗;失败;细菌

【中国图书分类法分类号】R781.33;R780.2 【文献标识码】B 【收稿日期】2007-03-12

The study on the microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment

WANG Ping, et al

(*Department of Stomatology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To determine the composition of the microbial flora present in teeth after the failure of root canal therapy, to provide bacteriological basis for curing infected root canals with sensitive drug. *Methods*: 86 root-filled teeth with persistent periapical radiolucencies were selected for retreatment. After removal of the root-filling material, the canals were sampled with paper points. The samples were grown under aerobic and anaerobic conditions and the bacteria were analyzed. Meanwhile, 25 teeth with chronic periapical periodontitis without endodontic treatment were selected. Samples were taken and cultivated. *Results*: Facultative anaerobes was the most prevalent species isolated from canals of root filled teeth. The microbial flora was mainly of 1 to 2 strains of predominantly gram-positive organisms. Enterococcus faecalis was the most commonly recovered bacterial species. *Conclusion*: Bacteria are high correlation with the teeth with failed endodontic treatment. The composition of the microbial flora in teeth with failed endodontic treatment has its own identity.

【Key words】 Endodontic treatment; Fail; Microorganism

根管治疗术是治疗牙髓病和根尖周病的主要方法,旨在清除细菌,控制感染,促进根尖病变的愈合。根管治疗的成功关键是彻底清除根管系统内感染或坏死的牙髓组织,并彻底充填和封闭根管系统。但根管治疗术也有其局限性,根管治疗术的成功率为 60%~90%[1]。失败的原因是多方面的。国际上围绕根管治疗失败的研究,始于 90 年代,根管内残余感染被认为是导致治疗失败的首要因素[2]。国内关于失败病例根管内微生物方面的研究较少,本研究对根管治疗失败病例根管内微生物进行培养检测,为进一步的药敏试验奠定基础,为临床根管治疗提供参考。

1 材料和方法

1.1 临床资料

选择我院口腔内科门诊就诊的根管治疗失败病例需要根管再治疗的 86 例共 86 颗患牙为研究对象。其中男性 48 人,女性 38 人,年龄 18~65 岁,前牙 28 例,双尖牙 30 例,磨牙 28 例。根据 Richard 的纳入失败病例的标准[3]:①患牙有自觉症状即自发性疼痛、肿胀、叩痛、咬合痛或窦道等。②X 线片检查有渐进性根尖病变或出现新的根尖病变,包括无根尖

作者介绍:王 萍(1970-),女,副主任医师,硕士,主要研究方向:牙体牙髓、牙周病学。

基金项目:重庆医科大学科技基金资助项目(XB200504)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

暗影的病例出现新的根尖病变、根尖暗影 2 年内没有愈合或有增大的病例。排除标准:患牙有下列情况之一者,排除收集范围:①牙齿冠根折②牙齿松动Ⅱ度,或牙槽骨吸收至根 1/3,或进行性牙周病。初诊时检查患者一般情况和临床症状,拍 X 线片;询问记录初次治疗情况。检查内容:有无自觉症状,继发龋,牙冠充填物或修复体的折裂或脱落,牙周炎,窦道,牙折和有无根尖病变等。X 线检查记录根尖暗影大小及根管充填情况。根充物距根尖处的距离,评价根充物的充填程度,分为 3 种:适填、欠填和超填[4]。①适填:根管内充填物恰好严密填满根尖狭窄部以上的空间,X 线片见充填物距根尖端 0.5~2mm,根尖部根管无任何 X 线透射影像。②欠填:X 线片示根管内充填物距根尖端 2mm 以上或根管内充填物与根管壁之间留有间隙,根尖部根管或根管中仍遗留有 X 线透射区。③超填:X 线片示根管内充填物不仅充盈了上述应填满的根管,而且超出了根尖孔,充填入根尖牙周膜间隙或(和)根尖周病损区。同时选择 25 例未经根管治疗的慢性根尖周炎病例,共 25 颗患牙为对照组,其中男性 15 人,女性 10 人,年龄 21~62 岁。患者在就诊前 1 个月内未使用过抗生素,无全身系统性疾病,无牙周疾患。

1.2 方 法

1.2.1 细菌标本采集 采样前首先给患者用 0.1%高锰酸钾液漱口,于患牙上置橡皮障,隔离唾液,用 1%碘酊和酒精棉球将患牙牙面及橡皮障反复消毒 3 次,以无菌牙钻去除原充填物打开髓腔,用无菌根管扩大针及根管锉(登士柏公司)去除根管内充填物,于根管内注入 100μl 无菌生理盐水,用消毒纸尖插入根管内,停留 60s 取出,立即投入装有 0.5ml 硫乙醇酸盐转送液(TD 液)的转送瓶内,4h 内转运实验室备检。为减少取样的人为误差,每次取样所用纸尖长短、粗细、插入根管内深度及停留时间均保持一致。对照组用无菌牙钻打开髓腔后取样方法同根管治疗失败病例组。

1.2.2 细菌的分离培养和鉴定[5] 在振荡器上将采集的细菌样本用玻璃珠充分打碎振荡 60s,连续倍比稀释至 10^{-4},选择适当稀释度的菌斑液各 0.1ml,分别均匀涂布于 BHI 和 BA 血琼脂培养基上,将厌氧培养基置于厌氧培养箱内(DY-Ⅱ型,浙江义乌冷冻机械厂),80%氮气,10%氢气,10%二氧化碳条件下,37℃培养 7 天,需氧菌于有氧环境下培养 2 天。挑

表 1 根管治疗失败病例根管内微生物检出情况

革兰氏染色	细菌分类	细菌属名	检出菌株数	百分率(%)	细菌种名	检出菌种数
G^+	兼性厌氧菌	肠球菌	33	23.40	粪肠球菌	33
		链球菌	21	14.89	溶血链球菌	21
		葡萄球菌	9	6.38	金黄色葡萄球菌	9
		放线菌	20	14.18	粘性放线菌	18
					衣氏放线菌	2
		乳杆菌	6	4.26	嗜酸乳杆菌	3
					短乳杆菌	3
	厌氧菌	消化链球菌	16	11.35	微小消化链球菌	8
					普氏消化链球菌	5
					产生消化链球菌	3
		丙酸杆菌	8	5.67	痤疮丙酸杆菌	5
					贪婪丙酸杆菌	3
		优杆菌	6	4.26	不解乳优杆菌	3
					沙优杆菌	3
G^-	厌氧菌	韦荣球菌	3	2.13	小韦荣球菌	2
					埃氏巨球菌	1
		类杆菌	10	7.09	牙龈类杆菌	2
					中间类杆菌	3
					产黑色素类杆菌	3
					口类杆菌	1
					颊类杆菌	1
		梭杆菌	7	4.96	具核酸杆菌	4
					多变梭杆菌	3
	真菌	白色念球菌	2	1.42	白色念球菌	2
		合计	141	100.00		141

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2 未经治疗的感染根管内微生物检出情况

革兰氏染色	细菌分类	细菌属名	检出菌株数	百分率(%)	细菌种名	检出菌种数
G^+	兼性厌氧菌	链球菌	22	9.32	溶血链球菌	22
		放线菌	9	3.81	粘性放线菌	6
					衣氏放线菌	3
		乳杆菌	4	1.69	嗜酸乳杆菌	2
					短乳杆菌	2
	厌氧菌	消化链球菌	35	14.83	微小消化链球菌	15
					普氏消化链球菌	12
					产生消化链球菌	8
		丙酸杆菌	9	3.81	痤疮丙酸杆菌	5
					贪婪丙酸杆菌	4
		优杆菌	6	2.54	不解乳优杆菌	3
					沙优杆菌	3
G^-	厌氧菌	韦荣球菌	5	2.12	小韦荣球菌	3
					埃氏巨球菌	2
		类杆菌	82	34.75	牙龈类杆菌	10
					中间类杆菌	15
					产黑色素类杆菌	50
					口类杆菌	4
					颊类杆菌	3
		梭杆菌	64	27.12	具核酸杆菌	45
					多变梭杆菌	19
		合计	236	100.00		236

取单个菌落作耐氧试验和纯分离培养。根据耐氧试验结果，将细菌分为专性厌氧菌和兼性厌氧菌。将分离出的各类致病菌作革兰氏染色,同时接种于 API 生化鉴定试剂盒,测试细菌的尿素酶、触酶、靛基质、明胶液化、七叶灵水解和对葡萄糖、甘露醇、蔗糖、山梨醇、木糖和丙三醇等的分解能力。通过生化反应结果对主要细菌进行鉴定，计算主要细菌的检出率。

2 结 果

2.1 根管治疗失败病例根尖情况

X 线检查根管治疗失败病例有根尖病变的患牙 86 例,其中根尖暗影范围<3mm² 的有 24 颗,根尖暗影范围在 3~5mm² 的有 40 颗,>5mm² 的有 22 颗。病变范围 0.5~9mm²,平均 3.9mm²。

2.2 根管治疗失败病例充填程度

就诊的患牙中根管适填 63 例；欠填 20 例;超填 3 例。

2.3 根管治疗失败病例根管内微生物检出情况

86 例根管治疗失败病例根管中有 83 例(96.5%)分离出共 141 株细菌(表 1),有 3 例根管内未检测出细菌。其中兼性厌氧菌 89 株(63.1%),专性厌氧菌 50 株(35.5%),真菌 2 株(1.4%)。83 例中有 2 例根管内检测出白色念球菌，并且呈单一感染;有 38 例根管内只检测出 1 种细菌;有 40 例根管内检测出 2 种细菌;有 2 例根管内检测出 3 种细菌;有 1 例根管内检测出 4 种细菌。83 例中有 33 例(39.8%)根管内分离出粪肠球菌,其中有 20 例为单一感染。83 例中有 80 例(96.4%)根管内仅分离出 1~2 种细菌,平均每根管内为 1.7 种细菌。

2.4 未经根管治疗的感染根管内微生物检出情况

25 例未经根管治疗的慢性根尖周炎根管中有 25 例(100%)分离出共 236 株细菌(表 2),其中专性厌氧菌 201 株(85.2%),兼性厌氧菌 35 株(14.8%)。25 例均为专性厌氧菌为主的混合感染。

3 讨 论

牙髓根尖周病是一种细菌感染性疾病,患者众

维普资讯 http://www.cqvip.com

多,细菌经由牙体疾患感染牙髓终至波及根尖周组织。由于根管内长期存在病源刺激物,造成根尖周组织破坏,牙槽骨吸收,是造成失牙的主要原因之一。根管治疗的目的是彻底清除根管系统内感染或坏死的牙髓组织,并彻底充填和封闭根管系统,从而治疗和预防牙髓和根尖周病。在无菌条件下,根据标准操作原则进行根管治疗的成功率为 85%~90%。尽管在治疗过程中由于技术问题可导致治疗失败,但一些 X 线显示根充完善的病例仍会出现疼痛、根尖暗影未消甚至扩大。这可能与根管内、根管外感染,异物反应、存在真性囊肿及病损部位纤维性瘢痕愈合等原因有关[6],其中根管内残余感染被认为是导致治疗失败的首要因素。Sundqvist 等[1,7]发现,从完善充填但失败的经治根管中分离的微生物与未作治疗的感染根管及治疗不完善感染的根管内菌群组成不同。菌群组成以兼性厌氧菌为优势菌,多数菌落仅为 1~2 种细菌的生长,罕见多种细菌的混合感染,其中最常分离到的细菌是粪肠球菌(Enterococcus faecalis),在根管内呈单一感染。这些研究结果与已知的初始感染根管内的菌群种类、组成和数量有显著的区别,后者以专性厌氧菌为优势菌,多种微生物的混合感染为特征[8]。提示失败病例的根管内菌群有其特殊性。本研究中根管治疗失败患牙根管内检出的细菌 84.4%为革兰氏阳性菌,63.1%为革兰氏阳性兼性厌氧菌,超过 1/3 的患牙细菌培养为单一细菌感染,每根管内平均检出 1.7 种细菌。39.8%的根管中可检出粪肠球菌,其检出率最高。与 Sundqvist 的研究结果相似。一些细菌,特别是 G^+兼性厌氧菌能在营养匮乏的环境下存活,而没有其它细菌的协同作用[9]。兼性厌氧菌特别是粪肠球菌对常用的根管灭菌药物及抗菌药物有极强的抵抗力,临床医师很难用传统的方法将定植于根管中的粪肠球菌彻底清除。在失败根管中还能检出抗药力较强的放线菌、白色念球菌[10]。提示根管系统内残留微生物持续感染与根管失败密切相关。本研究中对照组根管内检出的细菌是以专性厌氧菌为主的混合感染,其中专性厌氧菌占 85.2%,检出率由高到低分别为类杆菌、梭杆菌、消化链球菌、丙酸杆菌、优杆菌、韦荣球菌;兼性厌氧菌以链球菌常见,其次为放线菌。

有些适充失败的病例,无论从 X 线充填程度和密度上,还是从牙冠部的修复情况上看,都无任何问题。但患牙出现根尖暗影,失败的可能原因是患者的机体免疫系统超反应引起的病变。有学者报道有些失败病例没有发现细菌。失败是根尖周组织对异体组织的免疫反应。有的充填材料可引起机体的异物反应。此外,一些降解的自体细胞,如红细胞、淋巴细胞、粒细胞和巨噬细胞也可引起机体的免疫反应[6]。这些原因造成的治疗失败与治疗本身无明显关系,主要是个体因素引起。手术取出完善根管充填患牙根尖周病变未愈的组织进行微生物和组织学检查,组织学诊断为根尖囊肿,未检出任何微生物,但囊肿上皮衬里周围的结缔组织里可见大量的胆固醇晶体。实验证实胆固醇晶体可致慢性炎症反复发作,机体对胆固醇晶体的异物排斥反应可阻碍治疗取得理想疗效。胆固醇晶体主要来源于降解的宿主细胞及循环的血浆脂质,因宿主多核巨细胞无法及时清除而沉积,导致根尖周病损难以愈合。本研究中有 3 例根管内未检测出细菌,但 X 线检查有根尖暗影,可能与上述原因有关。

参 考 文 献

[1] Sundqvist G,Figdor D,Persson S,et al. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,1998;85(1): 86-93.

[2] Pinheiro ET,Gomes BP,Ferraz CC,et al. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions[J]. Int Endod J,2003;36(1):1-11.

[3] Richard T. 浅谈根管治疗的成功与失败[J]. 中华口腔医学杂志 1991;26(3):177-178.

[4] 樊明文.牙体牙髓病学[M]. 第 3 版,北京:人民卫生出版社,2000.249-273.

[5] 肖晓蓉. 口腔微生物学及实用技术[M]. 北京:北京协和医科大学和北京医科大学联合出版社,1993.131-135.

[6] Siqueira JF. Aetiology of root canal treatment failure:why well-treated can fail[J]. Inter Endod J,2001;34(1):1-8.

[7] Pinheiro ET,Gomes BP,Drucker DB,et al. Antimicrobial susceptibility of Enterococcus faecalis isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions[J]. Int Endod J,2004;37(2):756-763.

[8] 梁景平,刘 正,张国驰,等.感染根管厌氧菌的初步研究[J]. 中华口腔医学杂志,1991;26(1):28-30.

[9] Hancock HH,Sigurdsson A,Trope M,et al. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American Population[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,2001;91(5):579-586.

[10] Kalfas S,Figdor D,Sundqvist G. A new bacterial species associated with failed endodontic treatment:identification and description of Actinomyces radicidentis[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,2001;92(2):208-214.