مطالعات خارج دهانی تأثیر لایه اسمیر در نفوذپذیری عاج دیواره کانال دندان نسبت به باکتری‌ها

دکتر اکبر خیاط *، دکتر لعیا صفی *، دکتر جمشید کهن طب **

* بخش اندودنتیکس دانشکده دندانپزشکی شیراز

** عضو هیئت علمی بخش میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

چکیده

مطالعات اخیر نشان داده است که باکتری‌های کانال قادر به نفوذ در توبول‌های عاجی بوده و پوشش سیمانی در سطح خارجی ریشه سد محکمی در برابر تهاجم آن‌ها به ناحیه فضای پریودونتال می‌باشد. در این مطالعه سعی شده است ک اثر لایه اسمیر باقی‌مانده در سطح کانال، بر تراواپذیری مجاری عاجی و چگونگی نفوذ باکتری‌ها به درون عاج و دستیابی آن‌ها به خارج ریشه مورد بررسی قرار گیرد. سی و نه دندان تک ریشه‌ای فاقد نقص ساختمانی انتخاب شدند. آماده سازی کانال دندان‌ها با روش Step-back انجام گردید. دندان‌ها به دو گروه آزمایشی ۱۵ تایی و سه گروه کنترل مثبت و منفی و استریلیتی سه تایی تقسیم شدند. پوشش سیمان سطح خارجی ریشه‌ها بصورت استاندارد و یکنواخت و به منظور دستیابی به انتهای خارجی مجاری عاجی برداشته شد. در یکی از گروه‌های آزمایش لایه اسمیر سطح کانال با استفاده از روش یامادا (Yamad) برداشته شد. دندان‌ها و مدل تهیه شده با استفاده از گاز اکسید اتیلن به مدت یک شب استریل شدند. مدل طراحی شده شامل بطری در دار محتوی مایع کشت بود که دندان‌ها با کمک سیم در آن‌ها آویزان شده بود بطوری که حفره دسترس دندان در ارتباط با خارج و ریشه دندان در مایع کشت غوطه ور بودند. تلقیح دو سوش باکتری از نوع متحرک (P. Vulgaris) و غیر متحرک (S.Epidermidis) به داخل حفره دسترسی و تعویض آن‌ها هر سه روز یکبار صورت گرفت. کدر شدن مایع کشت نشاندهنده دستیابی باکتری‌ها به خارج دندان و آلودگی محیط خارج ریشه بود. نتایج حاصله نشان داد اگر چه در گروهی که سطح کانال دندان‌ها فاقد لایه اسمیر بود نسبت به گروهی که دندان‌ها حاوی لایه اسمیر بودند حرکت باکتری‌ها در توبول‌های عاجی سریعتر بود، دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشتند.

کلید واژه‌ها: لایه اسمیر، اندودونتیکس، عاج دیواره کانال

مقدمه

لایه اسمیر ترکیبی از مواد ارگانیک و غیر ارگانیک آلوده به باکتریها و فراورده های آنها است که بدنبال تراش بافت سخت دندان ایجاد میگردد. بدنبال تراش دیواره های کانال در معالجات اندودونتیکس ، وجود لایه اسمیر با ضخامت ۵-۱ میکرون در قسمت سطحی کانال و تا عمق ۴۰ میکرون در داخل مجاری عاجی نشان داده شده است. اگر چه اسمیت (Smith) و همکارش در سال ۱۹۷۵ به وجود لایه اسمیر در کانال ریشه بدنبال معالجات اندودونتیکس اشاره نموده‌اند [۲]، دخالت احتمالی لایه اسمیر در نتایج حاصله از معالجات اندودونتیکس موضوعی است که نیاز به بررسی بیشتر دارد.

تأثیر لایه اسمیر در معالجات اندودونتیکس از دو جنبه حائز اهمیت است؛ یکی دخالت آن در چگونگی چسبندگی و تطابق ماده پرکردگی با دیواره کانال و دیگری تأثیر آن بر تراواپذیری مجاری عاجی و نفوذ باکتریها در آنهاست . بعضی از محققین لایه اسمیر را آلوده به باکتری دانسته و برداشتن آنرا در درمانهای اندودونتیکس به منظور جلوگیری از آلودگی مجدد کانال توصیه نموده‌اند. از آنجائیکه برداشتن لایه اسمیر مستلزم استفاده از مواد اسیدی است و بعضی از مطالعات نشان داده است که برداشتن این لایه همراه با افزایش نفوذ پزیری مجاری عاجی نسبت به باکتریها است بطوریکه باکتریها قادرند تا عمق قابل ملاحظه‌ای در آن پیشروی کنند، عده‌ای برداشتن آن را توصیه نمی‌کنند [۴ و ۵]. صفوی و همکارش نفوذ باکتریهای استرپتوکوک را در مجاری عاجی تا عمق ۳۰۰ میکرون متعاقب برداشتن لایه اسمیر از سطح برشهای طولی ریشه با استفاده از اسید سیتریک، نشان داده‌اند [۴]. هاپاسالو (Haapasalo) و همکارش با برداشتن لایه اسمیر از سطح داخلی کانال نشان دادند که باکتریهای انتروکوک در مدت سه هفته قادرند تا عمق یک میلیمتری مجاری عاجی نفوذ کنند [۵]. ویلیامز (Williams) و همکارش با قرار دادن دیسکهای عاجی با ضخامت یک میلیمتر در برابر باکتریهای proteus vulgaris نفوذ باکتری در مجاری عاجی را بررسی کرده و نشان دادند که لایه اسمیر اگر چه نمی‌تواند بعنوان سدی کامل در برابر باکتریها عمل کند، تا حدودی نفوذ آنها را به درون مجاری عاجی به تأخیر می‌اندازد [۶]. پس از آن پرز (perez) و همکارانش (۱۹۹۳) با مطالعه مجاری عاجی توسط میکروسکوپ نوری و الکترونی عمق نفوذ لایه اسمیر را تا ۷۹۲ میکرون گزارش کردند و یادآور شدند که درجه بلوغ عاج عامل مهمی در نفوذ پذیری عاج است. بلکمن (Blechman) و آکپاتا (Akpata) (۱۹۸۲) نشان دادند که میزان گسترش تهاجم باکتری با عاج ریشه به زمان تماس باکتری با دیواره کانال مرتبط است و حداکثر عمق نفوذ را در توبولهای عاجی ناحیه طوق دندان مشاهده کردند [۸]. گوتیرز (Gutierrez) و همکارانش (۱۹۹۰) با مطالعه کانالهای دندانهایی که برای مدتها به محیط دهان باز بوده‌اند نفوذ عمقی باکتریها را در عاج ریشه نشان دادند [۹].

عبور باکتریهای کانال از طریق مجاری عاجی به خارج ریشه و تأثیر آن روی بافتهای نگهدارنده دندان موضوعی است که نظر محققین را بخود جلب نموده است اگر چه لایه سیمان سطح ریشه بعنوان سدی مانع دستیابی باکتریهای کانال به ناحیه پریودونتال میشود ولی در دندانهایی که به سبب ضربه، سیمان سطح ریشه دچار آسیب دیدگی شده است یا بدنبال درمانهای پریودنتال آنرا برداشته‌اند، باکتریهای پاتوژن و فرآورده‌های آنها قادرند با عبور از مجاری باعث تخریب قسمت سطح ریشه گردند [۱۰]. همچنین ناحیه طوق دندان (CEJ) که ممکن است عاری از پوشش لایه سیمانی باشد. با اجازه دادن به عبور باکتریهای کانال میتواند باعث تشدید بیمارهای پریودنتال شده یا روند ترمیم آنها را تحت تأثیر قرار دهد. هدف از این مطالعه، بررسی میزان نفوذ دوسوش باکتری استافیلوکوک اپیدرمیدیس (S. epidermidis) و پروتئوس ولگاریس (p. vulgaris) به درون مجاری عاجی ریشه‌هایی که فاقد پوشش سیمان سطحی هستند میباشد. در این مطالعه همچنین تأثیر لایه اسمیر در چنین روندی ارزیابی شده است.

روش مطالعه

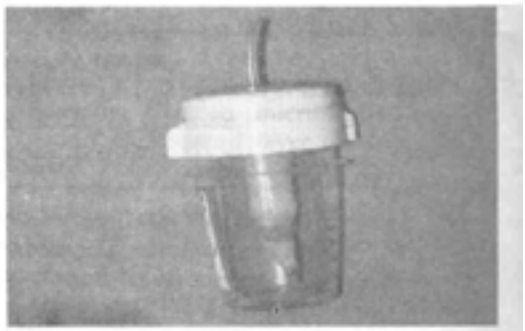
تعداد ۳۹ دندان تک ریشه و یک کاناله که فاقد هر گونه حالت غیر طبیعی در تاج یا ریشه بود بطور تصادفی انتخاب شد. دندانها در طول مطالعه در سالین فیزیولوژیک نگهداری می‌شدند. پس از تمیز کردن سطح ریشه و تهیه حفره دسترسی با روش استاندارد، مرحله آماده‌سازی کانال به روش step–back انجام پذیرفت. فورامن اپیکال تمامی دندانها تا فایل شماره ۳۰ گشاد و باز نگهداشته شد. همچنین بدنه کانال را تا فایل شماره ۶۰ و با استفاده از گیدگلیدن شماره ۴-۳-۲ تمیز و آماده نمودیم. جهت شستشوی کانال در حین آماده سازی، از محلول ۵/۲۵ ٪ هیپوکلریت سدیم استفاده شد. به منظور باز نمودن انتهای مجاری عاجی، پوشش سیمانی سطح خارجی ریشه به فاصله ۲ میلیمتری آپکس لخت و بطور یکنواخت فاقد سیمان سطحی شد. دندان‌ها به طور اتفاقی در ۵ گروه قرار گرفتند. دو گروه ۱۵ تایی بعنوان گروههای آزمایش و سه گروه ۳ تایی جهت کنترل (کنترل مثبت کنترل منفی و کنترل استریلیتی). در یکی از دو گروه آزمایش (گروه ۲) لایه اسمیر داخل کانال با استفاده از تکنیک یامادا (Yamada) برداشته شد. برداشت لایه اسمیر با روش یا مادا بدین ترتیب بود که کانالهای دندانها پس از تمیز شدن و آماده سازی طی سه مرحله با استفاده از هیپوکلریت سدیم و EDTA بطور پی در پی شستشو شد [۱۳]. سپس فورامن اپیکال و دو میلی‌متر آپیکالی تمام دندان‌ها، بجز گروه کنترل مثبت، با کمک موم چسب و دو لایه لاک ناخن پوشانده شد.

با استفاده از مدلی که شامل نصب و آویزان ساختن دندان در داخل بطریی مناسب بود [۱۴]، بطری را به دو محفظه غیر قابل نفوذ به یکدیگر تبدیل کردیم (شکل ۱).

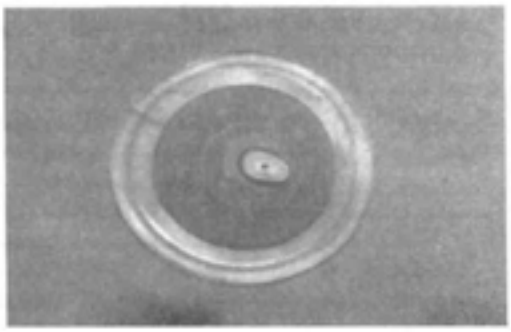
مدلها توسط گاز اکسیداتیلن در طول شب بمدت ۱۲ ساعت استریل شد. پس از آن به فاصله ۲۴ ساعت در هر دو محفظه (محفظه شیشه و درون حفره دسترسی دندان) محیط کشت thioglycolote استریل اضافه شد بطوریکه مایع به درون ساختمان دندان و توبولهای عاجی نفوذ نماید. متعاقب آن در محفظه بالایی (حفره دسترسی دندان) دو سوش باکتری شامل S. epidermidis و P.vulgaris اضافه شد. غلظت باکتری در حفره دسترسی دندان 10^6 باکتری در هر میلی‌متر بود. در طی مطالعه نمونه‌ها در انکوباکتور با درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. محیط کشت باکتریهای تلقیح شده، هر سه روز یکبار به منظور اطمینان از حیات و فعالیت باکتریها تازه میشد. نمونه ها هر روز جهت وجود کدورت در محفظه شیشه ای که حاکی از عبور باکتریها از توبولهای عاجی و رسیدن آنها به محیط کشت موجود در محفظه پائینی بود، مورد بررسی قرار می گرفت. در این مرحله برای اطمینان از وجود باکتریهای مورد مطالعه در میحط کشت جامد شامل blood agar و EMB منتقل کردیم و کلونی های رشد یافته را مورد مطالعه قرار دادیم. در ادامه جهت اندازه گیری ضخامت عاج باقیمانده در ریشه (remaining dentin thickness) برش افقی در ثلث میانی کلیه دندانها که ناحیه فاقد سیمان سطحی میباشد، تهیه و حداقل ضخامت عاج باقیمانده توسط کولیس و رنیه اندازه‌گیری شد (شکل ۲).

جهت اطمینان هر چه بیشتر از وجود باکتریها در توبولهای عاجی در چند تا از نمونه ها آزمایش میکروبیولوژی بعمل آمد. از نمونه ها پس از ثبوت و دی کلسیفیکاسیون برشهای هیستولوژیک به ضخامت ۵ میکرون تهیه و با روش modified Gram stain رنگ‌آمیزی شد (شکل ۳). مطالعه بمدت ۳۰ روز بطول انجامید.

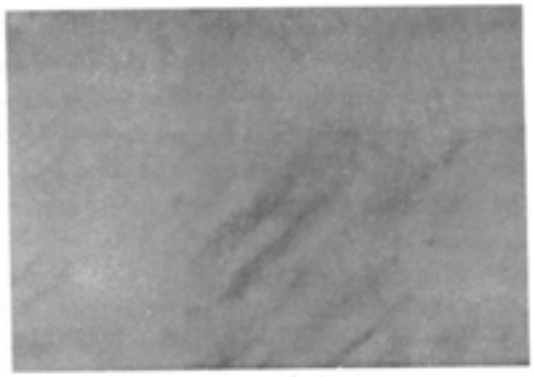
از تست آماری Mann– Whitney U جهت مقایسه میانگین های محاسبه شده استفاده شد.



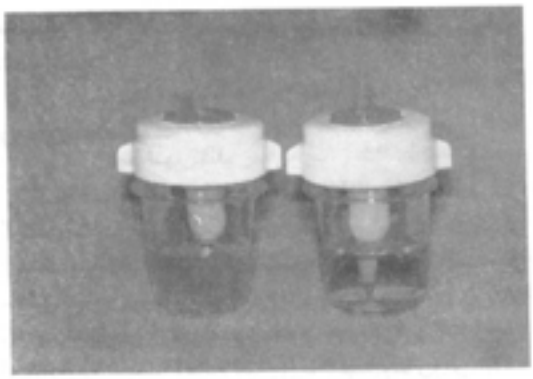
شکل ۱: مدل یکی از نمونه های گروه آزمایش



شکل ۲: برش تهیه شده از ثلث میانی دندانها جهت اندازه گیری ضخامت عاج باقیمانده (RDT)



شکل ۳: وجود باکتریها در توبولهای عاجی (۱۰۰۰x). اندازه باکتریها را با قطر توبولهای عاجی مقایسه کنید.



شکل ۴: محیط کشتهای مثبت (کدر) و منفی (شفاف)

نتایج

در گروه کنترل مثبت، کدر شدن محیط کشت در روز بعد از تلقیح باکتری بوجود آمد (شکل ۴). این مطلب گویای این حقیقت است که اگر مسیری موجود باشد، باکتریهای مورد مطالعه قادر به نفوذ به محیط کشت هستند.

گروه کنترل منفی در تمام طول مطالعه (۳۰ روز) حفظ شد و مشابه گروههای آزمایش با آنها رفتار گردید. تا پایان مطالعه هیچگونه آلودگی در این محیطهای کشت مشاهده نشد که دال برعدم وجود ریزنشت در حد فاصل دو محفظه است.

گروه کنترل استریلیتی را نیز تا پایان مطالعه نگهداری کردیم. کدر نشدن محفظه ها گویای این نکته بود که نمونه ها کاملاً استریل شده و در طول مطالعه آلودگی میکروبی نداشتیم. میانگین (انحراف معیار) مدت زمان عبور باکتریها از توبولهای عاجی در گروههای آزمایش، ۱۰/۱ ±۱۴/۷ روز در گروه ۱ و ۱۰/۴± ۱۱ در گروه ۲ بود. که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشتند.

سرعت نفوذ باکتری‌ها در نمونه‌های گروه ۲ که فاقد لایه اسمیر بودند، سریعتر از نمونه های گروه ۱ بود بطوریکه در ۴ روز اول آزمایش ۸ مورد از نمونه‌های گروه ۲ آلوده گردید، در حالی که در گروه ۱ فقط ۴ مورد آلودگی بوجود آمد. متوسط ضخامت عاج باقیمانده (RDT) در نمونه‌های مورد مطالعه که جداگانه توسط سه نفر اندازه‌گیری شد، ۱/۴۳ میلیمتر بود.

بحث

نفوذ باکتریهای کانال به‌درون مجاری عاجی دندانهای با پالپ مرده قبلاً گزارش شده بود. در این

مطالعه نفوذ باکتریها در مجـاری عـاجی بـه ضخـامت متوسط ۱/۴۳ میلی‌مـتر و دسـتیابی آن‌هـا بـه ناحیـه پریودنتال نشان داده شد.

میکروبها در بیش از نیمی از نمونه های موجود در گروه ۲ که لایه اسمیر سطحی داخل کانال در آنـها برداشته شده بود، در چهار روز اول آزمایش خود را بـه ناحیه خـارج ریشـه رسـاندند. حـال آنکـه رونـد نفـوذ باکتریها در نمونه‌های گروه ۱ که حـاوی لایـه اسـمیر سطحی بودند، در روزهای بعد رفتار نمونـه‌های هـر دو گروه مشابه هم بود. چنین مشاهداتی را شاید بتوان به این صورت توضیح داد کـه در ابتـدا لایـه اسـمیر سـد محکمـی در مقـابل باکتری‌هـا ایجـاد می‌کنـد، امـا بـا گذشت زمان در اثر فرآورده هـای حـاصل از باکتریـها، این لایه تخریب شـده و در دو گروه آزمـایش رفتـاری مشابه از خود نشان می‌دهند.

هاپاسالو و همکارش در مطالعه خود با برداشتن سیمان سطح ریشه دندانهای کشیده شده، نشان دادند که باکتریها قادر هستند طـی سـه هفتـه مـیزان یـک میلیمـتر در مجـاری عـاجی دنـدان نفـوذ کننـد [۵]. درمطالعه جـاری اگر چـه باکتری‌هـای بکـار رفتـه بـا باکتریهای مطالعه یاد شده متفاوت بود، نتـایج حاصلـه شبیه یافته‌های آنـها میباشـد، زیـرا باکتریـهای مـورد مطالعه ما در مدت ۳۰ روز مجاری عاجی بطـول ۱/۴۳ میلی متر را طی کردند. لایه اسمیر ناشـی از برداشـته شدن سیمان سطحی خارج ریشه که انتـهای مجـاری عـاجی را پوشـانده بـود نـیز نتوانسـت مـانع گذشـتن باکتریها به خارج ریشه شود.

در این مطالعه دوسوش باکتری، یکی متحـرک (P.vulgaris) و دیـگری غـیر متحـرک (S.epidermidis) ، مـورد مطالعـه قـرار گرفتنـد و معلوم شد که هر دو نوع باکتری قادر بـه نفـوذ بـوده و تفاوتی بین سرعت نفوذ آنها وجود ندارد.

ویمان (Weimann) و همکارش نشـان دادنـد که لایه اسـمیر قـادر اسـت توبولـهای عـاجی را بطـور مکانیکی مسدود کرده و مانع گسترش باکتریها بـدرون مجـاری عـاجی گردد [۱۷]. آنـها در مطالعـه خـود از باکتری Strep tococus milleri اسـتفاده کردنـد. وجود پروتئین‌هـای چسـبنده در دیـواره سـلولی ایـن باکتری ممکن است مانع نفوذ آنها بـه درون توبولـهای عاجی شده باشد.

تحقیق حاضر نشان می‌دهد که نفوذ باکتریها به درون مجاری عاجی علیرغم وجود یا عدم وجـود لایـه اسمیر میتواند بافتهای پریودنتال را تحـت تـأثیر قـرار دهد. این بدین معنی است که لایه اسمیر مانع نفـوذ و تهاجم باکتریها بدرون مجاری عاجی نمی‌شود.

منابع

1. Mader CL, Baumgartner JC, Peter DD: Scanning electron microscopic investigation of smeared layer on root canal walls. *J Endodont 1984;***10:**477.

2. McComb D, Smith DC: A preliminary scanning electron microscope study of root canals after endodontic procedures. *J Endodont 1975;***1:**238

3. Brannstrom M: Smear layer: pathological and treatment considerations. *Operative Dent Supp 1984;***3:**35.

4. Safavi KE, Spangberg L, Langeland K: Smear layer removal effect on root canal dentine tubule infection. *J Endodont 1989;***15:**175.

5. Haapasalo M, Orstavik D: *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res 1987;***66:**1375-9.

6. Williams S, Goldman M: Permeability of the smear layer by a strain of *Proteus vulgaris*. *J Endodont 1985;***11:**385-8.

7. Perez F, Calas P, Falguerolles A, Maurette A: Migration of a *Streptococcus sanguis* strain through the root dentinal tubules. *J Endodont 1993;***19:** 297-301.

8. Akpata ES, Blechman H: Bacterial invasion of pulpal dentis wall *in vitro*. *J Dent Res 1982;***61:**435-8.

9. Gutierrez JH, Jofre A, Villena F: Scanning electron microscope study on the action of endodontic irrigants on bacterial invading the dentinal tubules *1990;* **69:**491.

10. Ehnevid H, Hansson L, Lindskeg S, et al: Endodontic pathogens. Propagation of infection through patent dentinal tubules in traumatized monkey teeth. *End Dent Tram 1995;***11:**229-34.

11. Ehnevid H, Jansson S, et al: Periodontal Healing in teeth with periapical Lei-

sions. *J Clin Periodontol 1993;***20:**254-8.

12. Jansson L, Ehneivd H, et al: Relation between periapical and periodontal status. *J Clin Periodontol 1993;***20:**117-23.

13. Yamada R, Armas A, Goldman M, Lin PS: A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions. *J Endodont 1983;***9:**137-42.

14. Khayat A, Lee SJ, Torabinejad M: Human saliva penetration of coronally unsealed obturated root canal. *J Endodont 1993;***19:**458-61.

15. Chirnside IM: Bacterial invasion of nonvital dentin. *J Dent Res 1961;***40:** 134.

16. Shovelton DS: The presence and distribution of micro-organisms within nonvital teeth. *Br Dent J 1964;***17:**101.

17. Wiemann A, Drake D: Effect of smear layer on in vitro root canal bacterial colonization. *J Endodont 1991;***17:**189.

ABSTRACT

Previous studies have shown that bacteria can penetrate through the dental tubules, and that the root cementum acts as a barrier against this bacterial invasion. In this study, the effect of the smear layer on the dentine permeability to two bacterial strains (*S. epidermidis* and *P. vulgaris*) and the time needed for these bacteria to access the periodontal areas were studied. Using a step-back technique, 39 single-root-canal teeth were prepared. The teeth were divided into two experimental groups each composing of 15 teeth, and three control groups each consisted of 3 teeth. To expose the dental surfaces, the teeth root cementum was removed. In one of the experimental groups, the smear layer of the canal surface was removed by the Yamada technique. The teeth were placed in an appropriate flask and the whole apparatus was sterilized over the night with ethylene dioxide. The flask was filled by culture media to a level so that the broth covered the teeth root surface. Bacterial suspension was carefully placed in the access cavity of each tooth and replenished every three days. The number of days needed for the broth to become turbid, an indicator of bacterial invasion to periodontal space, was recorded. In our experiment, bacterial penetration through the dental tubules was faster in teeth without smear layer than in those with smear layer. This implies that the smear layer has perhaps, a protective effect against bacterial invasion to periodontal area. This difference, however, was not statistically significant, and more research is needed to clarify the condition.