

臨床上使用齲齒測試劑之評估

王淑惠 林光勳 郭倍榮 林哲堂

摘要

在保守性牙齒治療領域中，有一種新的嚐試—齲齒測試劑 (caries detector)，可以染出感染層牙本質 (infected caries dentin)，使臨床上去除齲蝕，將窩洞完全清潔能有個準則。本實驗乃利用此種測試劑—即 1% acid red in propylene glycol 染在患有齲蝕的牙齒上，再使用鑽針 (bur) 將殘留染紅組織 (含牙釉質與牙本質) 完全清除，之後再利用組織學方法加以觀察，包括磨片 (ground section) 和脫鈣後石臘包埋切片經由連續切片以革蘭氏染色法 (Gram's stain) 來觀察感染層牙本質殘留與否，來加以評估齲齒測試劑的可行性，並進一步分析存在問題的可能原因，以提出解決之辦法。

前言

臨床上施行牙體復形治療時，常遇見的困擾多半是“感染層牙本質”不能完全清除，使得細菌在復形物下的牙本質小管 (dentin tubule) 存活一段時間⁽¹⁾，而導致齲蝕繼續進行；或者因過分清除而造成牙髓的暴露^(25,26)。雖然有學者建議利用化學燒灼劑除去細菌⁽⁷⁾，但却會對牙髓和活性牙本質造成傷害，所以目前仍認為完全清除感染層軟化牙本質乃治療齲齒最基本的要求^(2,3,4)。

雖然以前有些學者曾以齲蝕牙本質的硬度和變色來作臨床上診斷的依據^(5,6)，但仍然缺乏明確的指出齲蝕牙本質感染的深度和程度⁽³⁾。而且由於使用者經驗的差異，其硬度大小與變色程度也很難精確地診查出來。因此又有學者提出可信度頗高的標準^(3,4)—即簡單的染色法 (dye solution) 來加以判斷^(8,11)。至於染色劑方面，1974年由 Sato 和 Fu-

sayama 提出 0.5% basic fuchsin 溶液可以有效地染出感染層牙本質⁽²⁴⁾，但由於發現有致癌的可能性^(9,10)，目前已不復使用。進而取代的是 1% acid red in propylene glycol (圖1)，化學名詞為 9-(2'-sulfonium-4'-sulfohenyl)-6-diethylamino-3-(N,N-diethylimino)-3-isoxanthene-sodium salt, $C_{27}H_{29}O_7N_2S_2Na$ ，分子量為 580.67 (圖2)，經證實為無致癌性⁽¹²⁾。

根據 Fusayama 的說法，齲蝕牙本質可分為二層⁽¹³⁻¹⁷⁾，一為外層齲蝕牙本質 (outer carious dentin)，是一層已受感染而且不敏感的非活性組織，為一種不可逆變性 (irreversible denatured)，無法再礦物質化。另一層為內層齲蝕象牙質 (inner carious dentin)，是一層未受感染 (uninfected) 會發生可逆性變性，且可再礦物質化、敏感而活性的組織。因此前者必須清除乾淨以治療齲齒



圖 1 齲齒測試劑 = 1% acid red in prophylyene glycol

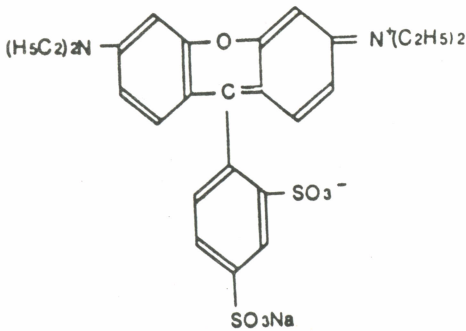


圖 2 acid red 的分子構造

，後者則需保留以保護牙髓。而齲齒測試劑只會染出外層齲蝕牙本質，即感染層非活性的牙本質^(2, 8, 17)。本實驗的目的是為了評估臨床上利用齲齒測試劑的操作，加上組織在顯微鏡之觀察，來測試染色劑對臨床上之效用。

材料與方法

本實驗之進行方法分為臨床操作和組織學上的觀察二項，並有實驗組和控制組二類以茲對照。

一、臨床部分：(見圖 3~圖 9)

任意挑選 24 個病人，25 顆齲蝕未深及牙髓且臨床上無自發性疼痛且必須拔除的第三大白齒為實驗組，並於口內施行下列步驟：

1. 以刷子 (brush) 和橡皮磨杯 (rubber cap) 沾濕的滑石粉 (pumice powder) 磨光整個牙齒表面。
2. 滴 1% acid red 於齲齒上，10 秒鐘後用水沖洗。
3. 以高速機鑽針 (high speed diamond bur) No. 699, 541, 和 33 1/2 去除齒釉質部份，再用慢速機 round steel bur (轉速慢，以不生熱為原則)，拿除殘留紅色組織。
4. 重覆染色，10 秒鐘後沖洗，再磨除紅色殘留部份；直到使用測試劑且沖洗後不再殘留紅色組織，此並經二位醫師檢查同意認可為止。
5. 經病人同意，隨即拔除該牙，並經 10% 福馬林溶液固定一星期以上。

二、組織上觀察：

將拔除的牙齒利用 Isomet 機器，為旋轉低速 (200 ~ 250 rpm) 的鑽石切片機 (diamond saw)，由窩洞正中央縱切成二半。

1. 其中一半牙齒製成 120 μ 厚度的磨片，於偏光顯微鏡下 (polarized microscope) 觀察，是否有殘留牙本質齲蝕 (dentin caries)，牙本質硬化 (dental sclerosis) 或透明牙本質 (transparent dentin)，以及殘留的牙釉質齲蝕 (enamel caries) 的變化。

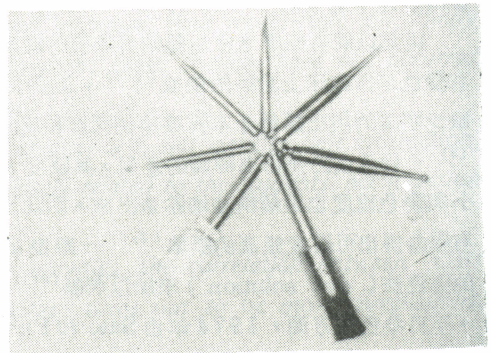


圖 3 使用的鑽針有刷子、橡皮磨杯，No 33 1/2, No 541, No 699 和 round steel bur

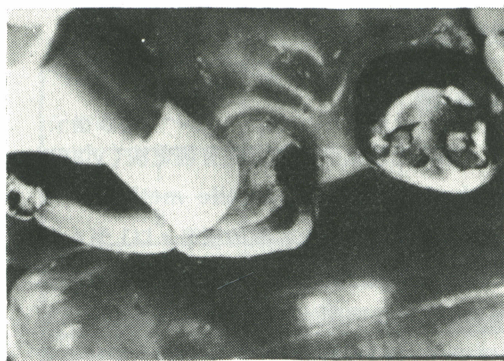


圖 4 施術時，先以橡皮磨杯磨光表面

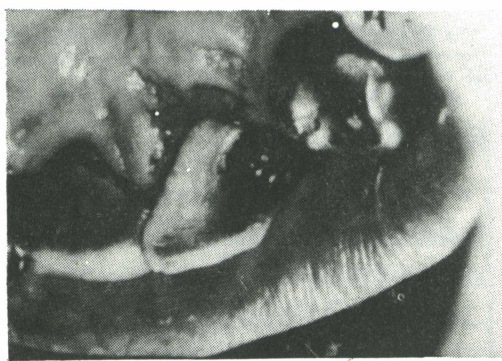


圖 5 滴上齲齒測試劑

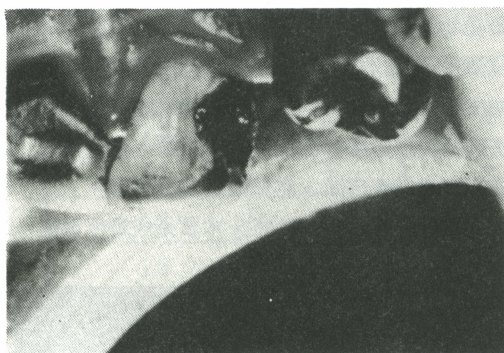


圖 6 十秒鐘後沖洗，可見殘留紅色組織

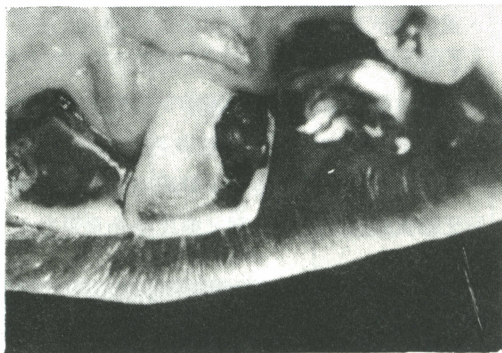


圖 7 磨除殘留紅色組織

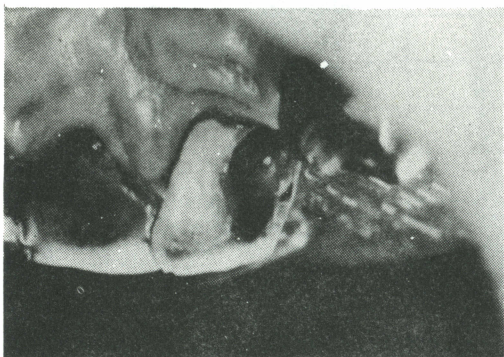


圖 8 再使用測試劑，重覆步驟如圖 5~7

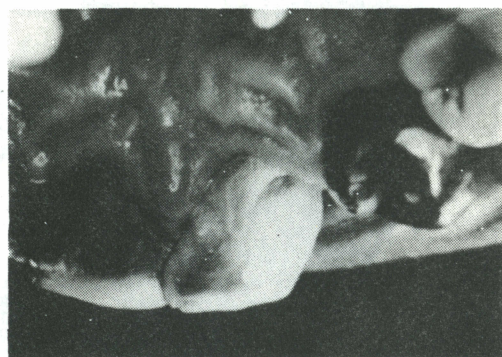


圖 9 直到使用測試劑經沖洗後不再留下紅色組織，而得窩洞之完成（注意：其變色部分並不為測試劑所染上）

2. 其餘一半牙齒經 5% 三氯乙酸 (trichloro-acetic acid) 脫鈣處理，做成 6 微米的石蠟連續切片。
3. 此石蠟切片利用革蘭氏染色技術來觀察其組織上的變化，包括細菌的殘留和硬化牙

本質的變化。

在控制組部份，另將選擇五個病人，五顆必須拔除的第三大白齒具有較深的凹點及溝裂齲蝕 (pit & fissure caries)，在未使用齲齒測試劑下，利用一般臨床磨除齲蝕病變的方

法，將齶蝕部分去除，同樣亦在組織上加以觀察。

結果

在臨床上操作時，僅有一名病人於較深的窩洞在使用測試劑時微感敏感外，其餘病人皆很合作。(圖3~圖9)

磨片的結果，實驗組除了編號12與23可見凹點及溝裂釉質齶蝕，編號15與23有牙本質齶蝕外，其餘並無殘留齶蝕組織。而且透過牙本質的形成在實驗組中可見輕度、中度、重度的沉積(分別以+、++、+++表示)。(圖10、11;表1)

在革蘭氏染色切片觀察中，很明顯地發現除編號15與23外，並無任何細菌的殘留。

而控制組五顆牙齒中，發現有三顆仍然殘留牙釉質齶蝕，其中二顆革蘭氏染色發現有些

微生物殘留。

討論

臨床上診斷齶蝕的方法有視覺法(visual method)和觸覺法(tactile method)⁽²¹⁾二種;但總合臨床上客觀的標準,以1% acid red 染色法為一種較好的方式。一般齶蝕測試劑對牙髓並無明顯的刺激反應,因此先使用測試劑操作,病人會較合作⁽²³⁾;但在本實驗中有一位病人具有較深的齶蝕窩洞在使用測試劑時,會有微感酸痛的感覺,這可能是因用水沖洗染色物質而造成的敏感所致⁽²⁴⁾。還有齶蝕測試劑也可當作牙菌斑顯示劑(disclosing agent)來使用⁽²⁾,所以本實驗在染色前為了避免和齶蝕部分之測試造成混淆,先用橡皮磨杯磨光齶蝕表面,將牙菌斑充分去除。

齶蝕測試劑使感染層牙本質造成染色改變



圖10 使用測試劑,可將齶蝕部分完全清除。(磨片、X 32,以水浸泡並以偏光顯微鏡觀察)



圖11 未使用測試劑,常可殘留齶蝕組織。(磨片、X 32,以水浸泡並以偏光顯微鏡觀察)

表1：使用齶齒測試劑與顯微鏡觀察後之結果

牙齒編號 \ 結果	使用齶齒測試劑	牙釉質齶	牙本質齶	透明牙本質	革蘭氏染色
1	+	-	-	-	-
2	+	-	-	+	-
3	+	-	-	++	-
4	+	-	-	+	-
5	+	-	-	+++	-
6	+	-	-	-	-
7	+	-	-	++ ~ +++	-
8	+	-	-	+	-
9	+	-	-	-	-
10	+	-	-	+	-
11	+	-	-	++	-
12	+	+	-	+	-
13	+	-	-	+++	-
14	+	-	-	++	-
15	+	-	+	+ ~ ++	+
16	+	-	-	-	-
17	+	-	-	++	-
18	+	-	-	-	-
19	+	-	-	+	-
20	+	-	-	++ ~ +++	-
21	+	-	-	+	-
22	+	-	-	-	-
23	+	+	+	+	+
24	+	-	-	+	-
25	+	-	-	+	-
26	-	-	-	-	-
27	-	+	+	-	+
28	-	+	+	++ ~ +++	+
29	-	+	-	-	-
30	-	-	-	-	-

* -：無，+：有，++：有且中度，+++：有且重度。

* 編號 1 ~ 25 為實驗組，26 ~ 30 為控制組。

的機轉，部分學者認為乃因為牙本質的成分中膠原纖維所造成；因為在齲蝕發生後，細菌分泌的乳酸會把牙本質中的鈣質脫出，使膠原纖維暴露出來，同時也造成膠原纖維變性，成為可染性^(15,25)。在此實驗組中有二顆牙齒雖使用了齲蝕測試劑，但在組織觀察上，卻還可以見到凹點及釉質齲蝕，這與Fusayama的說法有所差異。這可能存在的原因加以探討，可能是因細菌對牙齒之脫鈣不完全，使測試劑不易染色，或者因所選擇的牙齒多為第三大白齒，口內操作不易而導致失誤的現象。

透明牙本質或牙本質硬化乃是活性牙本質小管與齒髓的反應，導致牙本質小管的鈣化、閉鎖，以阻止細菌之進一步侵犯⁽¹⁷⁾。實驗組中大多有輕度到中度透明牙本質形成，只有少部分沒有。這表示本實驗並無過度磨除(over-reduction)，亦可能是進行迅速的齲蝕一急性齲蝕(acute caries)形成的硬化牙本質較不清楚，而進行緩慢的慢性齲蝕(chronic caries)則較明顯。透明牙本質是屬於內層齲蝕牙本質^(2,17,27)，雖然其牙本質小管有很多菱形結晶體沉積，但在齲蝕進行時，仍將其管間和管壁牙本質(intertubular & peritubular dentin)礦物質化，所以硬度方面，仍比正常牙本質低⁽²⁸⁾，因此硬度的程度不能作為清除齲蝕的標準。

在一般我們的經驗，似乎只要不軟化的牙本質，即使變色亦可保留下來。事實上，變色的牙本質可能不一定軟化，而且對慢性齲蝕而言，先行變色的牙本質與後侵入的細菌距離相當接近而不可分辨，所以在慢性齲蝕中，所有變色的牙本質都應完全拿除⁽³⁾。而且這種自然深染的變色(remarkably discolored)，其有機物或無機物的構造都與外層感染牙本質相似或稍硬，所以部分學者將此變色區歸為外層齲蝕牙本質，而加以磨除，縱然其可能較不為齲蝕測試劑所染上⁽¹⁴⁾。這可在實驗組中發現二個牙本質齲蝕病例來加以解釋，可能是這二顆慢性齲蝕的牙齒，在齲蝕深層部位發生

自然深染的變色，而這種變色並不易為齲蝕測試劑所染出，或者因顏色重疊不易觀察出來，而導致齲蝕的殘留。

至於造成牙本質齲蝕的細菌可觀察到的有球菌〔細球菌(micrococcus)，鏈球菌(streptococcus)，葡萄球菌(staphylococcus)，溶酪球菌(caseolytic micrococcus)〕、桿菌〔乳酸桿菌(lactobacilli)，棒狀桿菌(corynebacterium)〕和多形菌種〔土壤絲菌(nocardia)，放射線菌(actinomyces)〕^(30,31)。總之，在感染層牙本質中多為革蘭氏陽性細菌^(32,33)，而學者的研究亦不約而同的指出齲蝕細菌僅侵入外層齲蝕牙本質，所以只要完全磨除，即可肯定已拿除感染^(34,35)。而本實驗中革蘭氏染色除上述二個牙本質齲蝕病例，可見微少的細菌塊外，其餘很明顯的並無細菌的殘留，亦即無感染層齲蝕牙本質的存在，可以說感染已經清除乾淨。

結 論

本實驗用的1% acid red in propylene glycol，可以僅染上不敏感，不可逆變性，無法再鈣化的非活性組織，而留下活性、可再鈣化的內層齲蝕牙本質以保護牙髓。實驗結果顯示齲蝕測試劑確實可以提供臨床上清除齲蝕較客觀的方式，而且可避免過度磨除(over-reduction)，使病人不會有牙髓暴露或酸痛不合作的情形發生。

參考文獻

1. SCHOUBOE T, MACDONALD JB: Prolonged viability of organisms sealed in dental caries. Arch. Oral Biol. 7; 525-526, 1962.
2. FUSAYAMA T: New concepts in operative dentistry, Chicago, IL: Quintessence Publishing Co., 1980, pp. 44-57.
3. FUSAYAMA T, OKUSE K, HOSODA

- H: Relationship between hardness, discoloration and microbial invasion in carious dentin. *J. Dent. Res.* 45; 1033, 1966.
4. FUSAYAMA T, KUROSAKI N: Structure and removal of carious dentin. *Int. Dent. J.* 22; 401, 1972.
 5. GILMORE HW, LUND MR, BALES CDJ: Operative dentistry, 3rd ed., Saint Louis, C. V. Mosby Co. 1977.
 6. BAUM L, PHILLIPS RW, LUND MR: Textbook of operative dentistry, 2nd ed., W.B. Saunders Company 1985.
 7. SELTZER S: The comparative value of various medicaments in cavity sterilization. *J. Amer. Dent. Ass.* 28; 1844-52, 1941.
 8. SATO Y, FUSAYAMA T: Removal of infected dentin by fuchsin staining. *J. Dent. Res.* 55; 678, 1976.
 9. POOLE-WILSON DS: Occupational tumors of the bladder. *Proc. Soc. Med. (Section of Urology)* 53; 801, 1959.
 10. National Cancer Institute: Survey of compounds which have been tested for carcinogenic activity, Public Health Service No. 149, Suppl. 2; 1954-1960.
 11. FUSAYAMA T, TERASHIMA S: Differentiation of two layers of carious dentin by staining. *J. Dent. Res.* 51; 866, 1972.
 12. FUSAYAMA T, TAKATSU T, INOKOSHI S, ITOH K, YAMAUCHI J, SHIBATANI K: New composition of caries detector. *Jap. J. Conserv. Dent.* 22; 37, 1979.
 13. KATO S, FUSAYAMA T: Recalcification of artificial decalcified dog dentin in vivo. *J. Dent. Res.* 49; 1061-1067, 1970.
 14. OHGUSHI K, FUSAYAMA T: Electron microscopic structure of the two layers of carious dentin. *J. Dent. Res.* 54; 1019-1026, 1975.
 15. KUBOKI Y, OHGUSHI K, FUSAYAMA T: Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *J. Dent. Res.* 56; 1233-1237, 1977.
 16. MIYAUCHI H, IWAKU M, FUSAYAMA T: Physiological recalcification of carious dentin. *Bull Tokyo Med Dent. Univ.* 25; 169-179, 1978.
 17. FUSAYAMA T: Two layers of carious dentin: Diagnosis and treatment. *Oper. Dent.* 4; 63-70, 1979.
 18. STARKEY PE: Methods of preserving primary teeth which have exposed pulps. *J. Dent. Child.* 30; 219, 4th quar., 1963.
 19. LANGELAND K: Capping exposed pulpal tissue. *Clin. Dent.* 2; 1, Jan-Feb., 1974.
 20. SATO Y: Removal of infected dentin using fuchsin staining as a guide (with vital carious teeth). *J. Jap. Stomatol. Soc.* 41; 202, 1974.
 21. HOWAT AP, HOLLOWAY PJ: The effect of diagnostic criteria on the efficiency of experimental clinical trials. *J. Dent. Res. Special Issue C.* 56; 116-122, 1977.
 22. RADIKE AW: Criteria for diagnosis of dental caries, p. 87. In proceedings of the conference on the clinical testing of cariostatic agents, Chicago, October 14-16, 1968. Chicago,

- American Dental Association, 1972.
23. SHIMIZU C, ITOH K, YAMADA T, HACHIYA Y, IWANKU M, OHBA J: Pulp reactions to fuchsin solution for caries diagnosis. *Jap. J. Conserv. Dent.* 20; 140, 1977.
 24. IWAKU M, INOKOSHI S, HOSODA H, FUSAYAMA T: Conservative dentistry with a caries detector and a chemically adhesive composite. *Br. Dent. J.* 155; 19, 1983.
 25. KUBOKI Y, LIU CF, FUSAYAMA T: Mechanism of differential staining in carious dentin. *J. Dent. Res.* 62(6); 713-714, 1983.
 26. SHAFER WG, HINE MK, LEVY BM: A textbook of oral pathology, 3rd ed., London, W. B. Saunders Co. 1979.
 27. OGAWA K, YAMASHITA Y, ICHIJO T, FUSAYAMA T: The ultrastructure and hardness of the transparent layer of human caries dentin. *J. Dent. Res.* 62(1); 7-10, 1983.
 28. SHIMIZU C, YAMASHITA Y, ICHIJO T, FUSAYAMA T: Carious change of dentin observed on longspun ultrathin sections. *J. Dent. Res.* 60; 1826-1831, 1981.
 29. MILLER WA, MASSLER M: Permeability and staining of active and arrested lesion in dentin. *Brit. Dent. J.* 112; 187-197, 1962.
 30. ONISI M, NUCKOLLS J: Description of actinomycetes and other pleomorphic organisms recovered from pigmented carious lesions of the dentin of human teeth. *Oral Surg.*, 11; 901-30, 1958.
 31. DAVIES EE, NEMES JL: Anaerobic bacteria in carious dentin. *Oral Surg.* 8; 526-29, 1955.
 32. LOESCHE WJ, SYED SA: The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentin. *Caries Res.* 7; 201-16, 1973.
 33. EDWARDSSON S: Bacteriological studies on deep areas of carious dentin. *Odontologisk Revy.* 25, Suppl. 32, 1974.
 34. WHITEHEAD FI, MACGREGOR AB, MARSLAND EA: Experimental studies of dental caries. II. The relation of bacterial invasion to softening of the dentin in permanent and deciduous teeth. *Brit. Dent. J.* 108; 261-65, 1960.
 35. JOLLY M, SULLIVAN HR: The pathology of carious human dentin. *Aust. Dent. J.* 5; 157-64, 1960.

The Clinical Evaluation of Caries Detector

SHUW-HWEI WANG, GUAN-SHIUM LIN, BEY-RONG GUO
and CHEN-TONG LIN

SUMMARY

A new system of conservative dentistry using a caries detector which can stain the outer carious dentin is used as a reliable guide for caries removal. In this study, we use 1% acid red in propylene glycol to stain carious teeth clinically, after completely removing infected dentin — the red stained tissue, then utilizing ground section, and decalcified paraffin-embedded tooth sections treated with Gram's stain sectionally are observed.

It is evaluated for caries detector to remove carious dentin, and the causes of problem for retained caries are analysed, also possible solutions are presented. And it is suggested that the nature remarkably discolored tissue which can not be stained by acid red should be removed for the sake of safety.

School of Dentistry, Taipei Medical College.

Received for Publication: March 21, 1986.