

WOJCIECH GRZEBIELUCH, MARCIN ZAKRZEWSKI

Penetracja barwnika i termocykle w badaniach mikroprzecieku – przegląd piśmiennictwa

Dye Penetration and Thermocycling in Microleakage Studies – Review

Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej AM we Wrocławiu

Streszczenie

Problem szczelności brzeżnej jest tematem wielu badań. Jedną z najczęściej stosowanych metod oceny szczelności połączenia zęb/wypełnienie jest metoda penetracji barwnika. Celem pracy jest przegląd piśmiennictwa dotyczącego badań metodą penetracji barwnika. W dostępnym piśmiennictwie istnieją znaczne rozbieżności dotyczące metodologii badań, utrudniające ustalenie sposobu prowadzenia planowanych badań oraz analizę wyników prac różnych autorów. Konieczne jest ujednolicenie schematu badań; ułatwiłoby to analizę i porównanie wyników uzyskiwanych przez różnych badaczy. W pracy omówiono metodykę badań *in vitro* ze szczegółowym przedstawieniem aspektów dotyczących stosowania cykli termicznych i różnych rodzajów barwnika (**Dent. Med. Probl. 2005, 42, 1, 117–121**).

Słowa kluczowe: penetracja barwnika, mikroprzeciek, termocykle.

Abstract

Marginal integrity is a subject of various researches. One of the most commonly used methods for examining the interface tooth/restoration is dye penetration. The purpose of this study is the review of the papers on research into the use of dye penetration. In the available publications, there are many discrepancies in the methodology. This situation makes it difficult to decide on the methodology for planned research, and also causes problems with an analysis of the data found by different authors. The need for the standardization of the procedures seems to be necessary, which could simplify an analysis and comparison of the study carried out by different authors. In the current study the methodology of *in vitro* research was described of the use of thermocycling and different kinds of dyes (**Dent. Med. Probl. 2005, 42, 1, 117–121**).

Key words: dye penetration, microleakage, thermocycling.

Ciągły postęp w zakresie materiałów, technik preparacji oraz technik wypełniania ubytków wymaga weryfikacji. Długoterminowe badania kliniczne są najlepszą metodą weryfikacji jakości nowych systemów, jednak często jeszcze podczas ich trwania są wprowadzane kolejne modyfikacje badanych materiałów. Badania kliniczne są czasochłonne i kosztowne, dlatego na szeroką skalę stosuje się różnego rodzaju badania *in vitro*. Można je podzielić na następujące grupy: proste testy laboratoryjne oceniające właściwości materiałów (twardość, ścieralność, kurczliwość, wytrzymałość na ściskanie i rozciąganie, sorpcja wody, uwalnianie jonów, np. fluoru, rozpuszczalność); badania oceniające szczelność połączenia wypeł-

nień z tkankami zęba (penetracja barwnika, gazu, izotopów, badanie mikro- i nanoprzecieku); siłę wiązania materiału i czynniki wpływające; rozkład naprężeń i odkształceń wywoływanych przez zmiany objętości materiału lub obciążenie wypełnionego zęba; badania jakości powierzchni wypełnienia i granicy materiałów. Badania *in vitro* są miarodajne tylko wtedy, gdy uwzględniają warunki środowiska jamy ustnej [1], a ich wyniki są źródłem wielu cennych informacji, których nie można byłoby uzyskać na podstawie badań klinicznych. Mnogość testów i ich modyfikacji sprawia trudności w podjęciu decyzji o wyborze metody umożliwiającej obiektywne porównanie wyników innych autorów.

Planując badania *in vitro* należy pamiętać, że *in vivo* końcowy efekt leczenia jest wypadkową wielu współistniejących czynników. Należy brać pod uwagę cechy materiału, technikę opracowania ubytku i zakładania wypełnień oraz swoiste warunki środowiska jamy ustnej. Długotrwałe pozytywne efekty leczenia zależą więc nie tylko od właściwości użytego materiału i techniki jego stosowania, ale również od takich czynników fizycznych, jak: temperatura i jej zmiany, duża wilgotność, [2] obciążenia mechaniczne [3].

Siła wiązania materiałów adhezyjnych zależy od rozległości i umiejscowienia ubytku oraz sposobu jego preparacji, obecności szkliwa w okolicy przydziąsłowej (grubość szkliwa, nachylenie przyzębia względem wypełnienia), średnicy kanałków zębinowych, zanieczyszczenia śliną, płynem dziąsłowym lub krwią. Do utrzymania efektu terapeutycznego istotne są parametry wytrzymałościowe materiałów, skurcz polimeryzacyjny, ścieralność, współczynnik rozszerzalności termicznej [4].

Doświadczenie i umiejętności praktyczne operatora według niektórych autorów nie wpływają znacząco na powodzenie leczenia, ważne jest jednak opanowanie techniki pracy danym systemem [5].

Problem szczelności brzeżnej jest przedmiotem wielu badań, a jego rozwiązanie stanowi jeden z głównych celów prac nad nowymi materiałami, systemami wiążącymi oraz technikami pracy. Jedną z najczęściej stosowanych metod oceny szczelności połączenia ząb–wypełnienie jest metoda penetracji barwnika [6–8].

Celem pracy jest przegląd piśmiennictwa dotyczącego badań metodą penetracji barwnika. Stosowanie różnej metodyki badań powoduje duże rozbieżności wyników i utrudnia ich porównanie.

Symulacja warunków panujących w jamie ustnej oraz reakcji zachodzących podczas długotrwałego użytkowania wypełnień jest trudnym zadaniem, dlatego zazwyczaj prowadzone badania ograniczają się do oceny jednej lub kilku wybranych zmiennych, takich jak: starcie, kurczliwość, rozszerzalność termiczna [9]. W metodach *in vitro*, oceniających jakość połączenia wypełnienia z zębem, jednym z częściej stosowanych badań jest symulacja obciążeń termicznych [7, 8, 10, 11] oraz mechanicznych [3]. W tym celu wykorzystuje się specjalnie skonstruowane urządzenia, jak na przykład opisane przez Kunzelmana [12], służące do symulacji warunków jamy ustnej, uwzględniające zmiany temperatur i obciążenia mechaniczne.

Postępowanie podczas badań

Badanie metodą penetracji barwnika ma na celu wykrycie nieszczelności między materiałem

a tkankami zęba. Materiał badawczy w przeważającej większości przypadków stanowią wolne od próchnicy zęby, usunięte z przyczyn ortodontycznych lub periodontologicznych, w których wykonuje się wypełnienia. Wykonane preparaty poddaje się obciążeniom (termicznym lub/i mechanicznym), a następnie izoluje lakierem, pozostawiając margines 1–2 mm od brzegu wypełnienia. Próbkę są umieszczane na określony czas w roztworze barwnika (tab. 1). Wybarwione zęby płucze się i poddaje cięciu lub łamaniu, które uwidacznia miejsce styku badanego wypełnienia z tkankami zęba. Głębokość i rozległość penetracji barwnika ocenia się za pomocą mikroskopu świetlnego w powiększeniu 10–50 razy [7, 8, 13, 14]. Zakres penetracji jest określany w milimetrach lub proporcjonalnie w odniesieniu do anatomii ubytku lub zęba [5, 14–17].

Cykle termiczne

W celu obciążenia badanych wypełnień preparaty poddaje się zmianom temperatury o określonej wartości. Takie postępowanie nazywa się cyklami termicznymi.

Cykle termiczne wykonuje się w celu symulacji wahań temperatur występujących w jamie ustnej podczas spożywania pokarmów i oddychania. Fizjologicznie występują duże wahania temperatur spowodowane spożywaniem pokarmów stałych i płynnych [2, 18, 19] oraz oddychaniem [20]. Symulacja zmian temperatur jest technicznie prosta, dlatego cykle termiczne należą do najczęściej stosowanych sposobów obciążania wypełnień w warunkach laboratoryjnych [7, 11, 13, 21]. W pracach eksperymentalnych próbowano określić zmiany temperatur zachodzące podczas jedzenia i picia [20, 22]. Dokładne zbadanie tego zjawiska jest jednak trudne z powodu występowania wielu zmiennych wywołanych nawykami, warunkami oraz okolicą, którą się bada [22]. Temperaturę spoczynkową jamy ustnej mogą znacząco zmienić temperatura i wilgotność powietrza wdychanego oraz szybkość oddychania [20]. Bez oddychania i obciążenia termicznego temperatura jamy ustnej wynosi średnio 35°C [23, 24]. Duże różnice występują w zależności od lokalizacji punktu pomiarowego, wynoszą nawet 4,5°C między językową powierzchnią zębów trzonowego i siecznego [22]. Najniższa wartość temperatury spożywanych pokarmów może osiągać 0°C, ale sytuacje takie są na ogół rzadkie. Najniższa temperatura spożywanych płynów, która nie wywołuje dyskomfortu to 15°C, choć 10°C jest względnie dobrze tolerowane przez niektóre osoby [25]. Maksymalna temperatura płynu, przy której większość osób nie odczuwa jeszcze nieprzyjemnych wrażeń

Tabela 1. Parametry używane podczas badań metodą penetracji barwnika**Table 1.** Parameters used in studies concerning dye penetration

Autor (Author)	Rok (Year)	Piśmien- nictwo (Reference)	Zakres temperatur (Temperatu- res range) °C	Czas trwania cyklu (Dwell time) s	Czas przejścia (Change time) s	Liczba cykli (Number of cycles)	Barwnik (Dye)
Bala	2002	[7]	5–55	30	30	500	2% błękit metylenowy przez 24 h
Castelnuovo	1996	[11]	5–55	brak danych (no data)	brak danych (no data)	300	0,5% fuksyna zasado- wa przez 24 h
Chuang	2001	[5]	5–60	brak danych (no data)	brak danych (no data)	1500	2% fuksyna zasad przez 24 h
Gupta	2002	[8]	4–60	60	100	100	0,5% fuksyna zasadowa
Hahn	2001	[40]	5–55	60	12	520	0,5% fuksyna zasadowa
Hilton	1999	[30]	5–55	brak danych (no data)	brak danych (no data)	1000	brak danych (no data)
Neme	2002	[27]	5–55	60	brak danych (no data)	1000	0,5% fuksyna zasadowa przez 24 h
Schuckar	1997	[41]	5–55	30	12	2000	1% fuksyna
Shinohara	2001	[10]	5–55	60	brak danych (no data)	1500	2% błękit mylenowy przez 24 h
Szep	2001	[13]	5–55	brak danych (no data)	brak danych (no data)	5000	2% błękit mylenowy przez 24 h
Toledano	2000	[42]	6–60	30	brak danych (no data)	1000	2% fuksyna zasadowa
Tung	2000	[37]	5–55	30	30	500	0,2% fuksyna zasado- wa przez 24 h
Ziskind	1998 1999	[14, 43]	4–60	60	60	750	2% fuksyna zasadowa

wynosi 60°C [18]. Według niektórych autorów w warunkach naturalnych kontakt zdrowego zęba z niską lub wysoką temperaturą, taką jak stosowane w badaniach z cyklami termicznymi, przez czas dłuższy niż 15 sekund powodowałby duży dyskomfort [26].

Zakres temperatur stosowany w badaniach *in vitro* mieści się w między 4 a 60°C (tab. 1). Czas trwania pojedynczego cyklu jest również zmienny, preparaty są pozostawiane w jednej temperaturze przez 10, 15, 30 lub 60 sekund [7, 8, 10, 14, 27].

Metoda penetracji barwnika wykrywa uszkodzenia interfazy zęb/wypełnienie również w preparatach niepoddawanych obciążeniom termicznym, istnieją jednak dowody naukowe, że zastosowanie cykli termicznych powoduje wzrost mikroprzecieku [28]. W zgromadzonym piśmiennictwie trudno doszukać się uzasadnienia decyzji autorów co do liczby zastosowanych cykli, waha się ona między kilkaset a kilka tysięcy. Zazwyczaj stosowanych jest 500 [3, 29], 1000 [27, 30, 31] lub 1500 cykli [5, 10]. Niektóre badania nie potwierdzają zależności mikroprzecieku od liczby zastosowanych cykli w przedziale 250–1000 [32, 33]. Szczegółowe dane dotyczące cykli termicznych przedstawia tabela 1. Cykle termiczne przeprowadza się zanurzając próby w wannach wypełnio-

nych wodą destylowaną o określonej temperaturze. Mandras et al. [32] oraz Wendt et al. [34] zamiast wody zastosowali roztwór barwnika o niskiej i wysokiej temperaturze i nie wykazali wpływu takiego postępowania na przeciek.

Rodzaj barwnika

Do wybarwiania preparatów najczęściej stosuje się fuksynę zasadową (0,5 i 2%) i błękit metylenowy (1 i 2%) [7, 10, 13, 35], rzadziej erytrozynę, zieleń brylantową (1%) [15] i tusz indyjski [36]. Preparaty są przechowywane w roztworze barwnika 4–48 godz., zazwyczaj w temperaturze 37°C; w 0,5 i 2% fuksynie zasadowej 24 godz. [5, 8, 11, 15, 27, 37, 38]; w 2% erytrozynie przez 12 godz. [39]; w tuszu indyjskim przez 48 godz. [36].

Podsumowanie

Penetracja barwnika jest od lat uznawaną i cenną metodą wykorzystywaną do oceny jakości materiałów stosowanych w stomatologii. Istnieją jednak znaczne rozbieżności w metodyce badań. Często brak jest uzasadnienia i zgodności autorów

co do parametrów obciążeń stosowanych podczas badań. Szczególnie dotyczy to części wykonywanych obciążeń termicznych (tab. 1). Tylko nieliczne prace odwołują się do badań eksperymentalnych ustalających np. zmiany temperatur w jamie ustnej *in vivo* [20, 22, 26]. Niewiele prac próbuje oceniać wpływ poszczególnych elementów procedury badania (np. liczba cykli, zakres temperatur) na końcowe wyniki [17, 34, 41, 42]. Taka sytuacja utrudnia ustalenie metodyki planowanych badań, utrudnia również analizę i porów-

nanie wyników prac różnych autorów. Ważne staje się przeprowadzenie badań, określających wpływ na wyniki takich czynników, jak: zakres temperatur, liczba cykli, czas trwania cyklu, czas przejścia między temperaturami i obserwacji *in vivo*, dzięki którym łatwiejsze byłoby stworzenie wzorca dla warunków laboratoryjnych. Pozwoliłoby to opracować ujednolicony schemat badań, ułatwiający analizę i porównanie wyników uzyskiwanych przez różnych badaczy.

Piśmiennictwo

- [1] RANDALL R. C., WILSON N. H. F.: Clinical testing of restorative materials: some historical landmarks. *J. Dent.* 1999, 27, 543–550.
- [2] NELSEN R. J., WOLCOTT R. B., PAFFENBARGER G. C.: Fluid exchanges at the margins of dental restorations. *J. Am. Dent. Assoc.* 1952, 44, 288–295.
- [3] FRUITS T. J., VAN BRUNT C. L., KHAJOTIA S. S., DUNCANSON M. G. JR.: Effect of cyclical lateral forces on microleakage in cervical resin composite restorations. *Quintess. Int.* 2002, 33, 205–212.
- [4] MARTIN N., JEDYNAKIEWICZ N. M., WILLIAMS D. F.: Cuspal deflection during polymerisation of composite lutes of ceramic inlays. *J. Dent.* 1999, 27, 29–36.
- [5] CHUANG S. F., LIU J. K., CHAO C. C., LIAO F. P., CHEN Y. H.: Effects of flowable composite lining and operator experience on microleakage and internal voids in class II composite restorations. *J. Prosthet. Dent.* 2001, 85, 177–183.
- [6] PEUTZFELDT A., ASMUSSEN E.: Composite restorations: influence of flowable and self-curing resin composite linings on microleakage *in vitro*. *Oper. Dent.* 2002, 27, 569–575.
- [7] BALA O., ÜTASLI M. B., ÜNLÜ I.: The leakage of Class II cavities restored with packable resin-based composites. *J. Contemp. Dent. Pract.* 2003, 15, 1–11.
- [8] GUPTA S. A., KHINDA V. I. SB., GREWAL N.: A comparative study of microleakage below cemento-enamel junction using light cure and chemically cured glass ionomer cement liners. *J. Indian. Soc. Pedo. Prev. Dent.* 2002, 20, 158–164.
- [9] BACHANEK T., NIEWCZAS A.: Parametry wytrzymałościowe wybranych materiałów alternatywnych dla amalgamatu srebra. *Magazyn Stomat.* 2001, 11, 1, 26–27.
- [10] SHINOHARA M. S., RODRIGUES J. A., PIMENTA L. A.: *In vitro* microleakage of composite restorations after nonvital bleaching. *Quintess. Int.* 2001, 32, 413–417.
- [11] CASTELNUOVO J., TJAN A. H., LIU P.: Microleakage of multi-step and simplified-step bonding systems. *Am. J. Dent.* 1996, 9, 245–248.
- [12] KUNZELMANN K. H.: Verschleisanalyse und Quantifizierung von Füllungsmaterialien *in vivo* und *in vitro*. Shaker Verlag, Aachen 1998.
- [13] SZEPE S., FRANK H., KENZEL B., GERHARDT T., HEIDEMANN D.: Comparative study of composite resin placement: centripetal buildup versus incremental technique. *Pract. Proced. Aesthet. Dent.* 2001, 13, 243–250.
- [14] ZISKIND D., AVIVI-ARBER L., HARAMATI O., HIRSCHFELD Z.: Amalgam alternatives – micro-leakage devaluation of clinical procedures. Part I. Direct composite/composite inlay/ceramic inlay. *J. Oral Rehabil.* 1998, 25, 443–447.
- [15] LIPSKI M.: Ocena laboratoryjna właściwości uszczelniających preparatu amalgam liner. *Magazyn Stomat.* 1999, 9, 4, 42–45.
- [16] WĄSIK A., CIECHOMSKI D.: Nowoczesne materiały podkładowe w aspekcie szczelności brzeżnej. *Czas. Stomat.* 1992, 45, 497–500.
- [17] PAZINATTO F. B., CAMPOS B. B., COSTA L. C., ATTA M. T.: Effect of the number of thermocycles on microleakage of resin composite restorations. *Pesqui. Odontol. Bras.* 2003, 17, 4, 337–341.
- [18] PLANT C. G., JONES D. W., DARVELL B. W.: The heat evolved and temperatures attained during setting of restorative materials. *Br. Dent. J.* 1974, 137, 233–238.
- [19] LONGMAN C. M., PEARSON G. J.: Variations in tooth surface temperature in the oral cavity during fluid intake. *Bio-materials* 1987, 8, 411–414.
- [20] BOEHM R. F.: Thermal environment of teeth during open mouth respiration. *J. Dent. Res.* 1972, 51, 75–78.
- [21] ARCORIA C. J., FISHER M. A., WAGNER M. J.: Microleakage in alloy-glass ionomer lined amalgam restorations after thermocycling. *J. Oral Rehabil.* 1991, 18, 9–14.
- [22] PALMER D. S., BARCO M. T., BILLY E. J.: Temperature extremes produced orally by hot and cold liquids. *J. Prosthet. Dent.* 1992, 67, 325–327.
- [23] SPIERINGS T. A., PETERS M. C., BOSMAN F., PLASSCHAERT A. J.: Verification of theoretical modelling of heat transmission in teeth by *in vivo* experiments. *J. Dent. Res.* 1987, 66, 1336–1339.
- [24] TIBBETTS V. R., SCHNELL R. J., SWARTZ M. L., PHILLIPS R. W.: Thermal diffusion through amalgam and cement bases: comparison of *in vitro* and *in vivo* measurements. *J. Dent. Res.* 1976, 55, 441–451.

- [25] PETERSON E. A., PHILLIPS R. W., SWARTZ M. L.: A comparison of the physical properties of four restorative resins. J. Am. Dent. Assoc. 1966, 73, 1324–1336.
- [26] HARPER R. H., SCHNELL R. J., SWARZ M. L., PHILLIPS R. W.: *In vivo* measurements of thermal diffusion through restorations of various material. J. Prosthet. Dent. 1980, 43, 180–185.
- [27] NEME A. M., MAXSON B. B., PINK F. E., AKSU M. N.: Microleakage of class II packable resin composites lined with flowables: an *in vitro* study. Oper. Dent. 2002, 27, 600–605.
- [28] ALANI A. H., TOH C. G.: Detection of micro-leakage around dental restorations. Oper. Dent. 1997, 22, 173–185.
- [29] DE MAGALHAES C. S., SERRA M. C., RODRIGUES A. L. JR.: Volumetric microleakage assessment of glass-ionomer-resin composite hybrid materials. Quintes. Int. 1999, 30, 117–1221.
- [30] HILTON T. J., FERRACANE J. L.: Cavity preparation factors and microleakage of class II composite restorations filled at intraoral temperatures. Am. J. Dent. 1999, 12, 123–130.
- [31] PERIS A. R., DUARTE S. JR., DE ANDRADE M. F.: Evaluation of marginal microleakage in class II cavities: effect of microhybrid, flowable, and compactable resins. Quintes. Int. 2003, 34, 93–98.
- [32] MANDRAS R. S., RELIEF D. H., RUSSEL C. M.: The effects of thermal and occlusal stresses on the micro-leakage of the Scotchbond 2 dentinal bonding systems. Dent. Mater. 1991, 7, 63–67.
- [33] RETIEF D. H.: Are adhesive techniques sufficient to prevent micro-leakage? Oper. Dent. 1987, 12, 140–145.
- [34] WENDT S. L., MCINNES P. M., DICKINSON G. L.: The effect of thermocycling in micro-leakage analysis. Dent. Mater. 1992, 8, 181–184.
- [35] MADEN M., GORGUL G., TINAZ A. C.: Evalation of apical leakage of root canals obturated with Nd : YAG laser softened gutta-percha, system-B, and lateral condensation techniques. J. Contemp. Dent. Pract. 2002, 15, 16–26.
- [36] IBARROLA J. L., REYNOLDS R. K., HERMSEN M. S., HOWARD J. H., KNOWLES K. I.: Evaluation of three methods of obturation using the obtura II system. Braz. J. Oral Sci. 2002, 1, 126–128.
- [37] TUNG F. F., ESTAFAN D., SCHERER W.: Microleakage of a condensable resin composite: an *in vitro* investigation. Quintes. Int. 2000, 31, 430–434.
- [38] BIJELLA M. F., BIJELLA M. F., DA SILVA S. M.: *In vitro* quantitative evaluation of marginal microleakage in class II restorations confected with a glass ionomer cement and two composite resins. Pesqui. Odontol. Bras. 2001, 15, 277–282.
- [39] PRATI C.: Early marginal microleakage in class II resin composite restorations. Dent. Mater. 1989, 5, 392–398.
- [40] HAHN P., ATTIN T., GROEFKE M., HELLWIG E.: Influence of resin cement viscosity on microleakage of ceramic inlays. Dent. Mater. 2001, 17, 191–196.
- [41] SCHUCKAR M., GEURSTEN W.: Proximo-cervical adaptation of class II-composite restorations after thermocycling: a quantative and ualitative study. J. Oral Rehabil. 1997, 24, 766–770.
- [42] TOLEDANO M., OSORIO E., OSORIO R., GRACIA-GODOY F.: Microleakage and sem interfaciám micromorphology of amalgam restorations using three adhesive systems. J. Dent. 2000, 28, 423–428.
- [43] ZISKIND D., VENEZIA E., MASS E., HIRSCHFELD Z.: The effect of composite resin application and radiation techniques on dye penetration in class II direct composite resin restorations. J. Oral Rehabil. 1999, 26, 254–258.

Adres do korespondencji:

Wojciech Grzebieluch
Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej AM
ul. Kuźnicza 43/45
50-138 Wrocław
tel.: +48 71 784 03 62
fax: +48 71 344 29 81
e-mail: dentysta@poczta.fm

Praca wpłynęła do Redakcji: 4.06.2004 r.

Po recenzji: 15.10.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 3.11.2004 r.

Received: 4.06.2004

Revised: 15.10.2004

Accepted: 3.11.2004