

مروری بر مقالات میکرولیکیج و روشهای اندازه گیری آن

دکتر حکیمه سیادت* - دکتر علی میرفضائیان**

*استادیار بخش پروتزهای متحرک فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی کرمان

**استادیار بخش پروتزهای متحرک فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

Title: Microleakage and its measurement methods

Authors: Siyadat H. Assistant Professor*, Mirfazaelian A. Assistant Professor**

Address: * Dept. of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Kerman University of Medical Sciences

**Dept. of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences

Abstract: Microleakage is one of the most important factors in restoration longevity. Microleakage can lead to recurrent caries, marginal fracture, marginal discoloration and tooth sensitivity. Several methods have been used for in-vitro measurement of microleakage. The present study is a review of the articles, from 1967 to 1999, which have been present in Medline.

Key words: Microleakage- Microleakage assessment- Termocycling

Journal of Dentistry. Tehran University of Medical Sciences (Vol. 15, No. 2, 2002)

چکیده

میکرولیکیج در رستوریشن‌ها مهمترین عامل در افزایش طول عمر آنها می‌باشد. میکرولیکیج می‌تواند سبب عود پوسیدگی، ایجاد شکستگیهای لبه مارجین و تغییر رنگ لبه‌ها و حساسیت دندانها شود. روشهای مختلفی جهت نشان دادن میکرولیکیج وجود دارد. مقاله حاضر حاصل بررسی مقالات موجود در مدلاین از سال ۱۹۶۷ تا ۱۹۹۹ میلادی می‌باشد که در داخل کشور قابل دسترس بود.

کلید واژه‌ها: میکرولیکیج - اندازه‌گیری میکرولیکیج - ترموسایکلینگ

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران (دوره ۱۵، شماره ۲، سال ۱۳۸۱)

مقدمه

میکرولیکیج را عبور باکتری، مایعات، مولکول‌ها یا یون‌ها بین دیواره حفره و مواد ترمیمی تعریف کرد (۳،۲،۱).
جلوگیری از میکرولیکیج در حد فاصل دندان / رستوریشن مهمترین عامل در افزایش طول عمر رستوریشن می‌باشد. میکرولیکیج ممکن است منجر به تغییر رنگ مارجین‌ها، شکستن لبه‌های مارجین، ایجاد پوسیدگیهای

در سال ۱۸۶۱ به منظور بررسی توانایی مواد ترمیمی جهت برقراری سیل، مطالعات میکروسکوپی بر روی ترمیمهای آمالگام انجام شد. از آن زمان محققین بسیاری جهت تشریح میزان نشت مواد دندانی و بهبود سیل حاشیه‌ای تلاش نموده‌اند. Kidd در سال ۱۹۷۶

مبنای این آزمایشات تاکنون تغییرات زیادی کرده است ولی روش اصلی، قرار دادن دندان پر شده در محیط کشت باکتری‌ها و اندازه‌گیری میزان نفوذ باکتری در قطعه‌ای از عاج تراشیده شده از کف حفره می‌باشد. نتایج حاصل از این روش کاملاً کیفی است و بستگی به حضور و یا عدم حضور باکتری دارد. شکافهایی که در مارجین‌ها وجود دارد، باید حداقل فاصله‌ای حدود $0/1-0/5$ میکرومتر داشته باشد تا به باکتری اجازه نفوذ دهد (۱)؛ اما شکافهای کوچکتر از این مقدار اجازه عبور توکسین‌ها و دیگر محصولات باکتری‌ها را می‌دهند که برای دندان مضر می‌باشد. امروزه این روش مطالعه درباره میکرولیکیج کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲).

رادایوایزوتوپ‌ها

روش معمول دیگر برای بررسی میکرولیکیج، استفاده از ایزوتوپ‌های رادیواکتیو می‌باشد. پیشنهاد شده است که استفاده از رادیوایزوتوپ‌ها جزئیات دقیقتری در مورد لیکیج ارائه می‌دهد؛ چون کوچکترین اندازه ایزوتوپ فقط ۴۰ نانومتر است در حالی که اندازه کوچکترین ذره رنگ 140 نانومتر می‌باشد (۳).

ایزوتوپ‌های مورد استفاده C^{14} , Rb^{86} , P^{32} , Ca^{45} , Na^{22} , S^{35} و I^{131} می‌باشند. در یک مطالعه نفوذ Ca^{45} و محلول رنگی Violet با هم مقایسه شدند و مشخص شد که در مارجین رستوریشن، ایزوتوپ در مقایسه با رنگ نفوذ بیشتری دارد (۱). به طور معمول Ca^{45} در فرم کلرید کلسیم و غلظت $0/1$ m Ci/ml معمولترین ایزوتوپ مورد استفاده است؛ چون این ایزوتوپ اشعه بتای کم‌انرژی ساطع می‌کند و نمی‌تواند به مینا نفوذ کند. Alani در سال ۱۹۹۰ اثبات کرد که Ca^{45} در درزهای خیلی عمیق نفوذ می‌کند (۲).

در مطالعه توسط رادیوایزوتوپ از دندانهای ترمیم شده

عودکننده در حد فاصل دندان / رستوریشن، حساسیت دندانهای ترمیم‌شده و ایجاد یا پیشرفت مشکلات پاتولوژیک در پالپ دندان شود (۲).

روشهای مختلفی جهت نشان دادن میکرولیکیج وجود دارد. این روشها شامل: استفاده از فشار هوا، اندازه‌گیری میزان نفوذ باکتری، استفاده از رادیوایزوتوپ‌ها، آنالیز فعالیت نوترونی، هدایت الکتریکی، اسکن‌های میکروسکوپ الکترونی (SEM)، ایجاد پوسیدگیهای مصنوعی، ردیابهای شیمیایی و رنگها می‌باشد (۲،۱).

فشار هوا

مطالعات In-vitro با استفاده از فشار هوا جهت بررسی تمامیت سیل لبه‌ای اولین بار در سال ۱۹۱۲ توسط Harper انجام شد. در این تکنیک هوای فشرده از طریق کانال ریشه و اتاقت پالپ وارد دندان می‌شود و کم‌شدن فشار در حالت استاتیک اندازه‌گیری می‌شود. مطالعات میکروسکوپی، آزاد شدن حبابهای هوا را از مارجین رستوریشن‌هایی که در آب فرو رفته‌اند، نشان می‌دهد (۱). مزیت این روش آن است که نتایج به صورت کمی (Objective) نیز قابل بررسی است؛ همچنین به تخریب ساختمان دندان نیاز نمی‌باشد. در نتیجه می‌توان میکرولیکیج را روی یک ترمیم در مدت زمان معین بررسی کرد (۲).

محدودیت اصلی این روش آن است که تنها مسیرهای لیکیجی را که از کف تا مارجین ادامه دارند، مشخص می‌کند و الگوی واقعی از جزئیات لیکیج را ارائه نمی‌دهد؛ همچنین از نظر کلینیکی می‌تواند در ساختمان دندان سالم نیز قدری میکرولیکیج نشان دهد (۲).

میزان نفوذ باکتری

اولین مطالعه در سال ۱۹۲۹ توسط Fraser انجام شد.

استفاده از تکنیک ردیاب رادیواکتیو بسیار پیچیده است؛ زیرا مقداری اشعه ساطع می‌کند و به منظور احتیاطات لازم، باید از وسائل خاص در تمام مراحل استفاده کرد؛ همچنین این تکنیک بسیار گران و به مشکلاتی که هنگام تفسیر ممکن است ایجاد شود، بسیار حساس است (۲).

عوامل متعددی وضوح اتورادیوگرافها را تحت تأثیر قرار می‌دهند از جمله موارد زیر:

▪ **نوع ایزوتوپ مورد استفاده:** یک ایزوتوپ با انرژی بالاتر پخش بیشتری روی فیلم ایجاد می‌کند و در نتیجه لیکج بیشتری را نشان می‌دهد. ایزوتوپ‌های با انرژی پایین‌تر وضوح را اصلاح می‌کنند.

▪ **فاصله بین منبع اشعه و هدف:** افزایش این فاصله تصویر را بزرگ می‌کند؛ اما کاهش آن سبب ایجاد وضوح بهتر می‌شود.

▪ **طول مدت تابش اشعه:** هرچه طول مدت تابش اشعه به فیلم بیشتر باشد، تغییرات به دلیل رفتار ذرات بتا بیشتر خواهد بود.

▪ **شستشو:** اگر مقاطع قبل از تابش اشعه در آب آلوده به ردیابهای محلول در آب شسته شوند، خطر انتشار ایزوتوپ‌ها به داخل نواحی‌ای که قبلاً آلوده نشده‌اند، افزایش می‌یابد (۱، ۵).

آنالیز فعالیت نوترونی

آنالیز فعالیت نوترونی برای مطالعه میکرولیکیج به صورت In-vivo و In-vitro استفاده می‌شود. در این روش دندانهای پر شده در محلول آبی نمک منگنز غیر رادیواکتیو قرار می‌گیرند؛ سپس همه نمکهایی که به سطح خارجی دندان چسبیده‌اند، شسته می‌شوند و دندان در مرکز یک راکتور هسته‌ای قرار می‌گیرد. به این ترتیب منگنهای غیر رادیواکتیو Mn^{55} ، به فرم فعال Mn^{56} تبدیل می‌شوند و

کشیده شده، استفاده می‌شود. تاج و ریشه به جز سطح مجاور ترمیم توسط وارنیش پوشیده می‌شود. این مسأله سبب می‌شود که از لیکج توسط کانال ریشه، ترکهای مینایی یا عاج عریان جلوگیری شود؛ سپس دندانها برای چند ساعت در محلول ایزوتوپ قرار داده می‌شوند. پس از خارج ساختن دندانها از محلول، نمونه‌ها به مدت طولانی شسته می‌شوند و مقاطع طولی از ناحیه ترمیم به دست می‌آید؛ سپس سطوح بریده شده روی فیلم فتوگرافیک قرار می‌گیرند (۲).

اتورادیوگرافی‌های به دست آمده نشان‌دهنده حضور و موقعیت هر ایزوتوپ رادیواکتیو است که بین رستوریشن و دیواره حفره نفوذ کرده است؛ به هر حال نتایج به صورت Subjective Scoring (حدودی) ارزیابی می‌شود (۲).

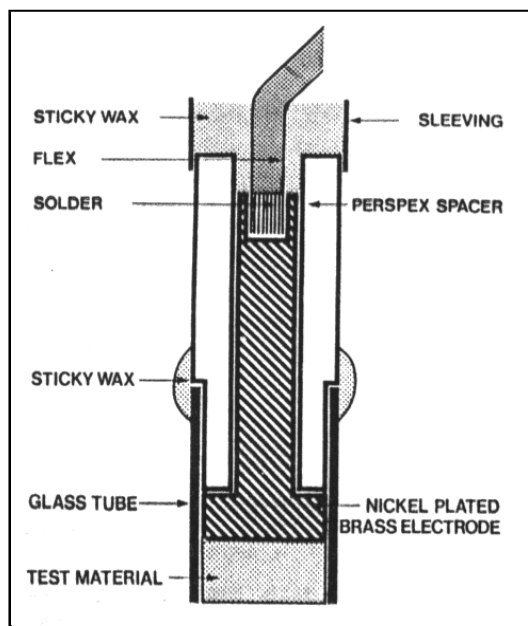
Gottlieb و همکاران در سال ۱۹۸۵ یک روش Subjective را با استفاده از محل قرارگیری اتصال مینا و عاج (DEJ) به عنوان راهنما برای نفوذ ایزوتوپ بکار بردند. دیگران برای غلبه بر مشکل سیستم Subjective Scoring طول نفوذ رنگ یا ایزوتوپ را در طول حد فاصل رستوریشن و حفره با استفاده از یک استریومیکروسکوپ بررسی کرده‌اند (۴).

بررسیهای طولانی میکرولیکیج می‌تواند توسط ساکارز رادیواکتیو C^{14} انجام شود. این تکنیک هم برای دندان مخرب است و هم قابل تعمیم به کلینیک نمی‌باشد (۲).

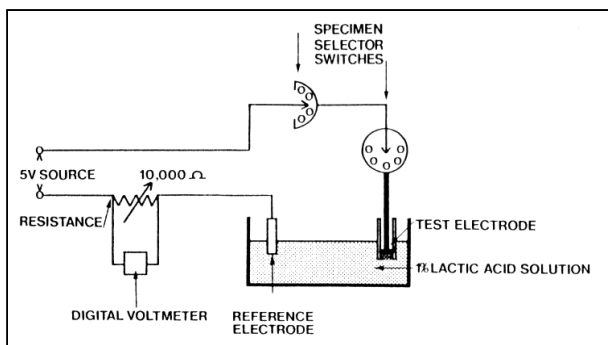
استفاده از Ca^{45} می‌تواند نتایج گمراه‌کننده‌ای را به همراه داشته باشد؛ زیرا ایزوتوپ نسبت به نفوذ در ساختمان دندان یا مواد ترمیمی تمایل دارد که می‌تواند باعث پخش (Scattering) ایزوتوپ روی اتورادیوگراف شود (۲).

اشکال اصلی مطالعات ردیابها (Tracers) (رنگ یا رادیوایزوتوپها) این است که نتایج به صورت Subjective به دست می‌آیند و وضعیت لیکج اتفاق افتاده وابسته به صفحه‌ای است که نمونه برش داده شده است؛ همچنین

تکنیک بسیار حساس است و نتایج آن به صورت کمی بیان می‌شود. در این روش نیازی به تخریب دندانها نمی‌باشد؛ بنابراین میزان میکرولیکیج در فواصل زمانی قابل بررسی است. این روش در موقعیتهای In-vivo قابل استفاده نیست (۶).



تصویر ۱- مجموعه الکترود



تصویر ۲- دیاگرام شماتیک آزمایش

بعضی محققین از دندانهای طبیعی در این تکنیک استفاده می‌کنند؛ آنها ادعا می‌کنند چون در این روش خطاهای ایجاد شده توسط آماده‌سازیهای لابراتواری حذف می‌شود، نتایج حاصله نسبت به تکنیک‌های نفوذ رنگ یا ایزوتوپ دقیق‌تر است. اصول این روش بدین صورت است

انرژی ساطع‌شده از این فرم فعال، اندازه‌گیری می‌شود. مقدار رادیواکتیو، متناسب با جذب Mn در هر دندان است. Goings در سال ۱۹۷۲ نشان داد که نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند به صورت کمی بررسی شود. محدودیت بزرگ این تکنیک گرانی و مشکل بودن آن است. برای تعیین مسیر و عمق ردیابهای نفوذکننده، باید برشهای متوالی داده شود. همین عمل با خطرات رادیاسیون همراه است؛ همچنین حضور منگنز در دندان یا رستوریشن باعث تغییراتی در نتایج می‌شود. این تکنیک، نقطه‌ای که ترمیم دچار نشت شده است را مشخص نمی‌کند و همچنین امکان جذب منگنز توسط دندان وجود دارد (۲).

هدایت الکتریکی

در تکنیک هدایت الکتریکی برای ارزیابی تغییرات ابعادی در حد فاصل دیواره‌های حفره و رستوریشن، از یک پیل الکتروشیمیایی استفاده می‌شود. این تکنیک در سال ۱۹۷۵ توسط Von Fraunhofer و Jacobson معرفی شد (۲). چون شیشه دارای ضریب انبساط حرارتی مشابه دندان است، از لوله‌های شیشه‌ای با قطر ۴ و طول ۱۵ میلیمتر استفاده می‌شود (تصویر ۱).

کف حفره توسط الکترود برنجی پوشیده از نیکل، فرم داده می‌شود. پس از قرار دادن ماده ترمیمی، لوله شیشه‌ای در محلول ۱٪ اسید لاکتیک قرار می‌گیرد. یک سر الکترود برنجی به منبعی با انرژی ۵ ولت وصل می‌شود. سر دیگر مدار به یک سری مقاومت الکتریکی متصل است؛ سپس فضای بین مواد و شیشه توسط مایع الکترولیت پر می‌شود (تصویر ۲).

چون ابعاد حفره‌ها یکسان است، هرگونه تغییر در جریان عبوری از پیل نشان دهنده میکرولیکیج خواهد بود. از این تکنیک در تحقیقات اندودنتیک نیز استفاده می‌شود. این

SEM ممکن است رخ دهد، جلوگیری می شود. این تکنیک محدود به نشان دادن نقائص مارچین می باشد و نتایج به صورت کمی مشکل به دست می آید. از این تکنیک جهت مشخص کردن نقائص مارچینال و ترکهای ایجاد شده در حین پرداخت کامپوزیت استفاده می شود (۷).

در تست SEM، نمونه ها به دلیل تخریب جزئیات سطحی، نباید در معرض پرتوهای قوی قرار بگیرند (۶). به دلیل در دسترس بودن میکروسکوپ الکترونی در مراکز تحقیقاتی و همچنین مقایسه نتایج حاصل از این روش با یافته های دیگر، امروزه این روش به عنوان روشی مطمئن در تحقیقات میکرولیکیج مورد استفاده قرار می گیرد (۱).

پوسیدگیهای مصنوعی

ضایعات پوسیدگیهای مصنوعی، شبه پوسیدگیهای ثانویه در مطالعات In-vitro با استفاده از کشت باکتری یا سیستم شیمیایی (تکنیک ژل اسیدی) ایجاد می شود. اولین تحقیق برای تولید ضایعه شبه پوسیدگی با استفاده از ژل اسیدی توسط Muhlemann در سال ۱۹۶۰ انجام شد. ضایعات ایجاد شده توسط این تکنیک با نور پلاریزه بررسی شدند و دو قسمت شامل یک ضایعه خارجی و یک ضایعه در دیواره حفره، توصیف شدند. ابتدا ضایعات خارجی در محل تماس اولیه مینا با رستوریشن ایجاد می شدند؛ در حالی که ضایعات دیواره حفره در مرحله بعد توسط میکرولیکیج یون ها از ژل اسیدی، اطراف رستوریشن شکل می گرفتند (۸).

در سال ۱۹۶۷ Brown و Ellis از یک تکنیک باکتریال برای ایجاد پوسیدگی ثانویه مصنوعی در حد فاصل رستوریشن و دندان استفاده کردند (۹).

در سال ۱۹۸۵ Chan و Jensen با استفاده از این تکنیک وسعت دیمینرالیزاسیون دیواره های حفره مجاور ترمیم رزین کامپوزیت را تعیین کردند (۱۰).

که یک الکتروود درون ریشه دندان کشیده شده، قرار می دهند؛ به نحوی که با کف پرکردگی تماس حاصل نماید؛ سپس دندان را کاملاً سیل می نمایند تا از لیکیج الکتریکی که در دندان طبیعی نیز وجود دارد، جلوگیری شود. بعد دندان را درون حمام الکتروولیت قرار می دهند و بین دندان و الکتروولیت یک پتانسیل الکتریکی برقرار می شود. لیکیج از طریق اندازه گیری تغییر میزان جریان برقرار شده در یک مقاومت (ترمیم) که بر سر راه الکتروولیت قرار دارد، اندازه گیری می گردد؛ البته این روش نمی تواند برای ترمیم های فلزی مورد استفاده قرار گیرد (۱).

اسکن میکروسکوپ الکترونی (SEM)

استفاده از این تکنیک به دلیل بزرگنمایی و عمق میدان دید بالا امکان مشاهده بصری و مستقیم را ممکن می سازد. این تکنیک محدود به دندانهای کشیده شده است. تکنیک SEM به دلیل خشک کردن نمونه ها، ترک و تغییر شکل، پتانسیل ایجاد خطاهایی را دارد و به همین دلیل تکنیک حساسی است. روش SEM با استفاده از Replica بهبود پیدا کرد. در روش Replica از دندان پر شده توسط سیلیکون لایت بادی قالبگیری می شود؛ داخل قالب با اپوکسی رزین گرما سخت تحت شرایط خلأ پر می شود و به مدت ۴۸ ساعت در حرارت ۵۰ درجه سانتیگراد قرار می گیرد؛ سپس به منظور انتقال الکتریکی سطح نمونه ها با فلز پوشیده می شود. باید دقت نمود در طی این عمل نمونه ها ذوب نشوند (۷).

این عمل اجازه بررسی تغییر اندازه نقائص مارچین ها را فراهم می کند. Replica می تواند در فواصل زمانی مشخص بررسی شود؛ بدون این که تغییری در ساختمان مورد مطالعه ایجاد شود. با استفاده از این روش از انقباض نمونه و یا سایر مشکلاتی که هنگام تهیه بافت بیولوژیک برای بررسی

واکنش داده است، جهت مطالعه In-vitro استفاده می‌شود. تعدادی از محققین کلرید نقره ۱٪ را پیشنهاد کرده‌اند. این تکنیک اختلاف رنگ (Contrast) بسیار بالایی را در حد فاصل عاج و ترمیم نشان می‌دهد.

مزایای این روش عبارتند از:

- اندازه‌گیریها بیشتر به صورت Objective (کمی) است.

- چون اطلاعات به دست آمده، کمی است، استفاده از آنالیز آماری بسیار مناسب است.

رنگ محلول نقره به اندازه ذرات ته‌نشین شده بستگی دارد و می‌تواند به رنگ سیاه، آبی، زرد، خاکستری یا قهوه‌ای باشد. مطالعات ردیابهای شیمیایی از نظر مشکلات و تفسیر نتایج مشابه مطالعات لیکیک رنگ می‌باشد (۲)؛ اما استفاده از نمکهای نقره همراه با محلول‌های فتوگرافیک نسبت به تکنیک نفوذپذیری رنگ در مطالعات میکرولیکیک در رده دوم قرار دارند (۱).

رنگها

یکی از قدیمی‌ترین و رایجترین روشهای بررسی میکرولیکیک به صورت In-vitro استفاده از رنگهای آلی بوده است. King در سال ۱۸۷۴ از رنگ آبی و Tomes در سال ۱۸۷۵ از رنگ لباس در مطالعات میکرولیکیک استفاده کرد (۲).

این تکنیک به صورت In-vitro روی دندانهای کشیده شده، انجام می‌شود. پس از ایجاد حفره و انجام ترمیم، نواحی ترمیم‌نشده، توسط وارنیش پوشیده می‌شود و نمونه‌ها در محلول رنگی قرار داده می‌شوند. پس از مدت زمان معین نمونه‌ها شسته و قبل از معاینه برش داده می‌شوند.

مروری بر مقالات منتشر شده نشان می‌دهد که انواع گسترده‌ای از رنگها به شکل محلول یا ذرات معلق در

نتایج حاصل از این روش به صورت کمی بیان می‌شود. درجه دمینرالیزاسیون به صورت کمی یا نیمه کمی (Semi Quantitative) بیان می‌شود. این تکنیک وسیله‌ای ارزشمند برای ایجاد پوسیدگی مصنوعی است که با بررسی میکروراديوگرافی یا نور پلاریزه از ضایعه طبیعی قابل تشخیص نمی‌باشد. این تکنیک دارای مزایای معینی می‌باشد. در این روش عوامل مداخله‌گر مثل میکروفلورا و مواد غذایی که در پوسیدگی طبیعی دخالت دارند، حذف و در مدت زمان کوتاهی ضایعه پوسیدگی ایجاد می‌شود. از طرف دیگر ویسکوزیتی ژل مشابه یک لایه از پلاک است. در سیستم پوسیدگیهای مصنوعی، مینای سطحی در معرض حمله دائمی یون‌های هیدروژن قرار دارد؛ در حالی که ژل به عنوان سدّی جهت جلوگیری از انتشار در برابر تجزیه معدنی عمل می‌کند؛ به عبارت دیگر میزان تحلیل معدنی قابل کنترل است (۲).

ردیابهای شیمیایی

در سال ۱۹۵۳ Konfield تکنیک دیگری را برای بررسی میکرولیکیک توصیف کرد. با قرار گرفتن نمونه‌های رستوریشن آکریلی در محلول سولفید باریم، مارچین‌ها با تغییر رنگ، لیکیک را نشان می‌دادند (۲، ۱۱).

استفاده از نیترات نقره برای بررسی میکرولیکیک جزو روشهای پذیرفته‌شده می‌باشد؛ به هر حال به دلیل این که اندازه یون نقره (۰/۵۹ نانومتر) در مقایسه با اندازه تیپیک باکتری (۰/۵-۱ نانومتر) بسیار کوچک می‌باشد، میزان نفوذ آن خیلی بیشتر است؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت هر ترمیمی که از لیکیک یون نقره جلوگیری کند، حتماً نسبت به لیکیک باکتری هم غیر قابل نفوذ است (۲، ۱۱).

معمولاً محلول ۰/۵٪ نیترات نقره که با یک محلول فتوگرافیک مثل (Hydroquinone) Benzen 1, 4-Diol

اندازه‌های مختلف در این مطالعات مورد استفاده قرار گرفته‌اند. غلظت مواد رنگی مورد استفاده بین ۰/۵٪ تا ۱۰٪ و زمان قرارگیری نمونه‌ها در این محلولها بین ۴ تا ۷۲ ساعت یا بیشتر متغیر بوده است (جدول ۱) (۲).

Investigators	Dye Used	Concentration of Dye (%)	Time of Immersion
Hirsch & Weinreb (1958)	Aniline blue	2	72 hours
Going & others (1960b)	Crystal violet	--	24 hours
Christen & Mitchell (1966)	Fluorescein	2	5-12 minutes
Grieve & Parkholm (1973)	Eosin	5	48 hours
Sanders & Dooley (1974)	Methylene blue	0.5	30 hours
Barry & Friedl (1975)	Methylene blue	2	2, 4, 8, or 16 days
Al-Hammadani & Crabb (1975)	Alcian blue	2	72 hours
Fogel (1977)	Methylene blue	0.25	1 day, 1 week, & 1 month
Crim & Mattingly (1981)	Basic Fuchsin	0.5	25 hours
Kwan & Harrington (1981)	India ink	--	24 hours
Camp & Todd (1983)	Rhodamine B	--	60 hours
Alperstein & others (1983)	Fluorescein	20	1 hour
O'Neill & others (1983)	India ink	--	24 hours
Tagger & others (1983)	Procion Brilliant Green	1	4 days
Michanowicz & Czonstkowsky (1984)	Methylene blue	5	7 days
Munksgaard & others (1985)	Erythrosin	9	10 seconds
Jacobsen & others (1985)	Methylene blue	1	72 hours
Crim & others (1985b)	Basic Fuchsin	0.5	24 hours
El-Deeb (1985)	Methylene blue	2	48 hours
Ben Amar & others (1985)	Basic Fuchsin	0.5	14 days
Crim & Chapman (1986)	Basic Fuchsin	--	24 hours
Zidán & others (1987)	Basic Fuchsin	0.5	60 seconds
Glyn Jones & others (1988)	Eosin	4	48 hours
Callis & Paterson (1988)	Procion blue	1	1 week
Spangberg & others (1989)	Methylene blue	2	7 days
Youngson & others (1990)	Eosin	5	48 hours
Mathis & others (1990)	Methylene blue	0.5	17 hours
Cuicchi & others (1990)	Blue cresyl	0.5	48 hours
Arcoria & others (1991)	Methylene blue	0.5	24 hours
Saunders & others (1991)	Black india ink	--	14 days
Brackett & others (1995)	Methylene blue	10	4 hours

جدول ۱- خلاصه نوع رنگ و مدت زمان غوطه‌وری نمونه

رنگهای مورد استفاده در این تکنیک باید دارای ثبات باشند و تحت شرایط مختلف شستشو و برش، پاک نشوند؛ مثلاً آنیلین‌بلو در محیط قلیایی مثل زمانی که کلسیم هیدروکساید به عنوان لاینر مورد استفاده قرار می‌گیرد، حل می‌شود (۱).

اثر ترموسایکلینگ روی میکرولیکیج

Nelsen و همکاران در سال ۱۹۵۲ احتمالاً اولین کسانی بودند که نشان دادند تغییرات حرارتی روی نفوذ مارجین مؤثر است. این مسأله به دلیل تفاوت در ضریب انبساط و انقباض حرارتی بافتهای دندان و رستوریشن است؛ همچنین انبساط حرارتی مایعات موجود در شکافهای بین دندان و رستوریشن نیز در این زمینه دخیل هستند.

Kidd در سال ۱۹۷۶ در مطالعات خود چنین نتیجه گرفت که در مطالعات میکرولیکیج حتماً باید تنشهای حرارتی جایگاهی داشته باشند؛ به هر حال مطالعات بعدی وی و همکاران مشخص کرد تستهای حرارتی که به صورت In-vitro انجام می‌شود، خیلی هم نتایج منطقی ارائه نمی‌دهند (۱۲، ۱۳).

درجه حرارتهایی که از آنها جهت ترموسایکلینگ در مطالعات In-vitro استفاده می‌شود، بین صفر تا ۶۸ درجه سانتیگراد می‌باشد. بیشتر محققین از درجه حرارتهای ۱۵ و ۴۵ درجه سانتیگراد برای ترموسایکلینگ استفاده کرده‌اند. این درجه‌ها بر اساس مطالعات In-vivo است که با استفاده از ترموکوپل درجه حرارت نوشیدنیهای سرد و گرم را روی سطح دندان مشخص کرده‌اند. دیگران از درجه حرارتهای ۴ تا ۶۰ درجه سانتیگراد و برخی دیگر از درجه حرارت ۵ و ۵۵ درجه سانتیگراد جهت مطالعه استفاده کرده‌اند (۱۴).

استفاده از رنگهای فلورسنت یکی از تکنیک‌های متداول و مفید می‌باشد؛ زیرا این رنگها در غلظتهای رقیق هم قابل تشخیص هستند؛ گران و سمی نیستند و در مطالعات In-vivo نیز همانند بررسیهای In-vitro قابل استفاده هستند.

در تکنیکهایی که از مواد رنگی استفاده می‌شود، نیازی به استفاده از مواد شیمیایی گوناگون و همچنین اشعه‌های رادیواکتیو خطرناک نمی‌باشد. این روش از نظر انجام روش بسیار حساس است و برای دستیابی به نتایج صحیح نیاز به اندازه‌گیریهای دقیق، اجرای صحیح آزمایش و استاندارد بودن مقیاسهای سنجش دارد.

Roulet در سال ۱۹۷۶ نشان داد که قرار دادن نمونه‌ها در خلأ قبل از قرار دادن در رنگ، میزان نفوذ رنگ را در طول مارجین‌ها افزایش می‌دهد؛ این مسأله به دلیل برداشته شدن هوای به دام افتاده در سیستم است. رنگی که در این روش بیشتر استفاده می‌شود، فوشین بازی است. این رنگ بویژه جهت بررسی پوسیدگیهای عاجی مناسب است (۱).

بعضی رنگها مثل فوشین بازی با عاج پوسیده باند می‌شوند. رنگهایی که به باند شدن با ساختمان دندان یا مواد ترمیمی تمایل دارند، بیش از آنچه که واقعاً Gap وجود دارد، در عرض و عمق Gap نفوذ می‌کنند. در مطالعات نفوذ رنگ چون نمونه‌ها جهت تفسیر کار تخریب می‌شوند، ارزیابی کمی به طور کامل امکان‌پذیر نیست.

نفوذپذیری عاج عامل دیگری است که در نظر گرفته می‌شود. در مطالعات میکرولیکیج روی عاج درجاتی از رنگ‌شدگی عاج مشاهده شده که از میکرولیکیج واقعی متفاوت است (۲).

بعضی دیگر در محلول‌های رنگی انجام شده است. تحقیقات نشان داده که عمق نفوذ رنگ در هر دو روش مشابه است (۱۷).

طبق استاندارد ISO/ TR 11405 جهت تست‌های ترموسایکلینگ، نمونه‌ها باید ۲۰ تا ۲۴ ساعت قبل، در آب ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گیرند؛ سپس باید ۵۰۰ بار در هر حمام 2 ± 55 و 2 ± 5 درجه سانتیگراد قرار داده شوند. مدت توقف در هر حمام حداقل ۲۰ ثانیه می‌باشد و مدت زمان انتقال از یک حمام به حمام دیگر ۵ تا ۱۰ ثانیه می‌باشد (۲۳).

اثر Cyclic Loading بر روی میکرولیکیج

Jorgensen در سال ۱۹۷۰ جهت نشان‌دادن فاکتورهای مکانیکی در محیط دهان که ممکن است فشارهای غیرممتقارن روی ترمیم‌ها وارد کنند، واژه نفوذ مکانیکی (Mechanical Percolation) را معرفی کرد. وی نشان داد که وارد کردن سیکل‌های مکانیکی روی دندانهای ترمیم‌شده میزان تغییر شکل دائمی (Deformation) آنها را افزایش می‌دهد.

Munksgaard پیشنهاد کرد که در مطالعات لابراتواری میکرولیکیج جهت مشابهت بیشتر به شرایط کلینیکی، دندانهای ترمیم‌شده باید در معرض تنش‌های اکوزالی و شوکهای حرارتی قرار بگیرند (۲۴).

سرعت جویدن به طور متوسط ۷۰-۸۰ سیکل در دقیقه است. حداکثر نیروی مضغی (Maximum Bite Force) در ناحیه دندانهای قدامی و خلفی متفاوت است و با از دست دادن دندانها کاهش می‌یابد. نیرویی که به طور متوسط به دندانهای ترمیم شده، وارد می‌شود ۲۲۰ نیوتن است (۲۵).

مطالعات دیگر نشان داده است که نیروهای متناوب

مدت زمان غوطه‌وری نمونه‌ها در آب سرد و گرم ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه بوده است. Causton و دیگران نشان دادند که هر چه نمونه کمتر در محلول بماند، از نظر کلینیکی حقیقی‌تر است. آنها مدت زمان ۱۵ ثانیه را توصیه کردند؛ اما Crim و همکاران وی نشان دادند که مقدار نفوذ رنگ و تعیین میکرولیکیج، از مدت‌زمان سکون نمونه در حمامهای سرد و گرم مستقل است (۱۵).

در مطالعات میکرولیکیج، وسعت ماده ترمیم و رسانا بودن آن از نظر هدایت حرارتی مهم است. وقتی دندان با کامپوزیت پر می‌شود و بلافاصله تحت تست‌های حرارتی قرار می‌گیرد، نسبت به زمانی که قبل از انجام تست‌ها در آب نگهداری می‌شود، نفوذ رنگ بیشتری را نشان می‌دهد. این مسأله به خاصیت جذب آب رزین‌های کامپوزیت نسبت داده می‌شود؛ بنابر این توصیه می‌شود در تست‌های میکرولیکیج روی ترمیم‌های کامپوزیت، نمونه‌ها قبل از انجام تست‌های حرارتی ۲۴ ساعت در آب نگهداری شوند (۱۶، ۱۷، ۱۸).

تعداد سیکل‌های حرارتی که در این تست‌ها به کار می‌روند از ۱ تا ۲۵۰۰ می‌باشد (۱۹)؛ اما Dubois و همکاران تعداد ۳۴۰۰ سیکل را (۶ ثانیه در هر حمام) مطرح کرده‌اند (۲۰). در بررسی روی مواد ترمیمی رزینی مشخص شده است که با افزایش تعداد سیکل‌ها، میکرولیکیج نیز افزایش می‌یابد.

Mandras و همکاران وی نشان دادند که تعداد ۲۵۰ و ۱۰۰۰ سیکل حرارتی روی میکرولیکیج کامپوزیت‌ها معنی‌دار نبوده است (۲۱). Crim و همکاران نیز در تحقیق خود بین ۱۰۰ و ۱۵۰۰ سیکل حرارتی اختلاف معنی‌داری مشاهده نکردند؛ همچنین بیان نمودند که تنش‌های حرارتی در تولید میکرولیکیج سریع عمل می‌کنند (۲۲).

برخی مطالعات ترموسایکلینگ، در حمامهای آب و

میکرولیکیج را نشان می‌دهند. میکرولیکیج باکتری‌ها بهترین روش در مطالعات In-vivo می‌باشد؛ اما کنترل آن مشکل است. نیاز به تعداد زیادی نمونه، صرف زمان زیاد و هزینه بالا از جمله معایب آن می‌باشد (۳).

چون ایزوتوپ در مقایسه با رنگ نفوذ بیشتری دارد، استفاده از رادیوایزوتوپ‌ها جزئیات دقیق‌تری در مورد لیکیج به دست می‌دهد. استفاده از Ca^{45} به دلیل تمایل نفوذ به ساختمان دندان یا مواد ترمیمی می‌تواند نتایج گمراه‌کننده‌ای داشته باشد؛ به علاوه استفاده از رادیوایزوتوپ‌ها بسیار پیچیده است. باید از وسایل و تجهیزات گران استفاده کرد و تفسیر نتایج نیز بسیار حساس است (۲).

محدودیت بزرگ روش آنالیز فعالیت نوترونی گرانی، مشکل بودن و همچنین خطرات رادیاسیون می‌باشد (۲). روش هدایت الکتریکی جهت ترمیم‌های فلزی قابل استفاده نیست و تکنیک پوسیدگی‌های مصنوعی در ترمیم‌هایی که شامل تکنیک اسیدچ می‌باشد، مناسب نیست (۸،۱). مطالعات ردیاب‌های شیمیایی از نظر مشکلات و تفسیر نتایج مشابه مطالعات لیکیج رنگ می‌باشد؛ اما استفاده از نمک‌های نقره همراه با محلول‌های فتوگرافیک نسبت به تکنیک Dye در مطالعات میکرولیکیج در رده دوم قرار دارند (۱).

اشکال اصلی مطالعات ردیاب‌ها (رنگ یا رادیوایزوتوپ) Subjective بودن نتایج است؛ چون وضعیت لیکیج اتفاق افتاده وابسته به صفحه‌ای است که نمونه برش داده شده است (۲).

با توجه به مزایا و معایب روش‌های مختلف، هیچ یک از روش‌های مطرح شده ایده‌آل نیستند؛ اما نتایج قابل قبولی را به دست می‌دهند. بیشترین روشی که به دلیل سادگی و سهولت دسترسی در تحقیقات استفاده شده، روش رنگ‌ها بوده است که البته در تحقیقات مختلف از رنگ‌های مختلف

(Cyclic Loading) هیچ اثر اضافی روی اندازه Gap مارجینال ندارد. Prati در سال ۱۹۹۴ نشان داد که نه شوک‌های حرارتی و نه تنش‌های اکلوژالی، میکرولیکیج رستوریشن‌ها را افزایش نمی‌دهند (۲).

جهت بررسی اثر تنش‌های فانکشنال روی Marginal Integrity، مطالعاتی به صورت In-vivo توسط Qvist انجام شد. نتایج نشان داد که فانکشن مضعی اثر مشخصی روی ایجاد مارجینال لیکیج دارد؛ بنابراین پیشنهاد شد که تنش‌های فانکشنال مهمترین عامل ایجاد میکرولیکیج هستند (۲۶).

جهت بررسی اثر شوک‌های حرارتی و تنش‌های اکلوژالی در ایجاد میکرولیکیج مطالعات متعدد In-vitro انجام شد. نمونه‌هایی که فقط در معرض شوک‌های حرارتی بودند، نسبت به نمونه‌هایی که فقط در معرض تنش‌های اکلوژالی بودند، اختلاف معنی‌داری نداشتند. اما این نمونه‌ها نسبت به نمونه‌هایی که هم در معرض شوک‌های حرارتی و هم تنش‌های اکلوژالی بودند، اختلاف معنی‌داری داشتند. به طور کلی در دندان‌هایی که در In-vivo یا در In-vitro در معرض تنش‌های اکلوژالی هستند، میکرولیکیج به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۳).

مروری بر مقالات Cyclic Loading نشان می‌دهد که تعداد و مقدار نیروی به کار رفته، بسیار متنوع است. Dubois و همکاران وی ۵۰،۰۰۰ سیکل ۴۰ نیوتنی را معادل ۶ تا ۸ هفته فانکشن در نظر گرفته‌اند (۲۰).

بحث

مزایا و محدودیت‌های روش‌های مختلف میکرولیکیج در جدول ۲ آمده است. ردیاب‌ها در مقایسه با دیگر روش‌ها معایبی دارند. ایزوتوپ‌های رادیواکتیو نسبت به رنگ‌ها مزایایی دارند؛ مثلاً در غلظت‌های کم نیز به خوبی

استفاده شده است. صورت In-vivo قابل انجام است. ولی بیشتر تحقیقات به

مطالعات میکرولیکیج هم به صورت In-vitro و هم به صورت In-vitro انجام می شود (۱).

Method of Detection	Investigators	Advantages	Limitations
Dye	Going (1972) Crisp & Wilson (1980)	1) detectable in dilute concentration 2) inexpensive 3) nontoxic	1) results evaluated subjectively 2) demands destruction of the specimen
Chemical Tracers	Wu & others (1983) Crim (1987)	1) safer 2) depth of penetration much better defined 3) teeth observed directly in a microscope 4) more objective method	same as using dye as method of detection
Radioactive Tracer	Going (1964) Alani (1990)	1) detection of minute amounts of leakage 2) deep penetration into defects	1) results evaluated subjectively 2) complex, needs precautions in handling 3) expensive 4) destructive
Bacteria	Fayyad & Ball (1987)	more clinically relevant	results assessed qualitatively
Air Pressure	Moller & others (1983) Taylor & Lynch (1991)	1) Results can be quantified. 2) no destruction of specimen	1) detects leakage pathways from the floor to the margin of the cavity 2) Leakage may occur through clinically sound tooth tissue.
Artificial Caries	Silverstone (1968) Kidd (1976a) Grieve (1973) Hattab & others (1989)	1) Microleakage may be linked directly to secondary caries. 2) quantification of results 3) degree of demineralization assessed quantitatively 4) eliminates external variables associated with the formation of natural caries	not appropriate for examining marginal leakage where the cavity preparation includes acid etching

جدول ۲- خلاصه مزایا و محدودیتهای روشهای مختلف تعیین میکرولیکیج

منابع:

- 1-Taylor MJ, Lynch E. Microleakage (Review). J Dent 1992; 20: 3-10.
- 2- Alani AH, Toh CG. Detection of microleakage around dental restorations: a review. Operative Dentistry 1997; 22: 173-85.
- 3- Retief DH. Do adhesives prevent microleakage? Int Dent J 1994; 44 19-26.
- 4- Gottlieb EW, Retiet DH, Bradley EL. Microleakage of conventional and high- copper amalgam restorations. J Prosthet Dent 1985; 53: 355-61.
- 5- Tulunoglu IF, Oktemer M. Tensile strength and microleakage of the bond between a nickel- chromium alloy and a visible light- cured resin composite: Effect of 4-META, Silicoating, and bead retention. Quintessence Int 1997; 28: 447-51.
- 6- Jacobsen Ph, von Fraunhofer JA. The effectiveness of apical dentin plugs in sealing endodontically treated teeth. J Dent Res 1975; 54:41-48.

- 7- Barnes IE. The adaptation of composite resins to tooth structure. *Br Dent J* 1977; 142: 122-29.
- 8- Kidd EAM, Harrington E, Grieve AR. The cavity sealing ability of composite restorations subjected to thermal stress. *J Oral Rehabil* 1978; 5: 279-86.
- 9- Ellis JM, Brown LR. Application of an in vitro cariogenic technic to study the development of carious lesions around dental restorations. *J Dent Res* 1967; 46: 403-408.
- 10- Jensen ME, Chan DCN. Polymerization shrinkage & microleakage in posterior composite resin. *Dental Restorative Materials* 1985; 243-62.
- 11- Linden JJ, Swift EJ. Microleakage of two new dentin adhesives. *Am J Dent* 1994; 7: 34 34.
- 12- Wendt SL, Mcinnes PM, Dickinson GL. The effect of thermocycling in microleakage analysis. *Dental Materials* 1992; 8: 181-84.
- 13- Kidd EAM. Microleakage: a review. *J Dent* 1976; 5: 199-206.
- 14- Grieve AR, Saunders WP, Alani AH. The effects of dentine bonding agents on marginal leakage of composite restorations- long- term studies. *J Oral Rehabil* 1993; 20 11-18.
- 15- Crim GA, Swartz ML, Phillips RW. Comparison of four thermocycling techniques. *J Prosthet Dent* 1985 b; 53: 50-53.
- 16- Retief DH. Standardizing laboratory adhesion tests. *Am J Dent* 1991; 4: 231-36.
- 17- Alani AH, Toh CG. Detection of Microleakage around dental restorations: a review. *Operative Dent* 1997; 22: 173-85.
- 18- Retief DH . Do adhesives prevent microleakage? *Int Dental J* 1994; 44: 19 26.
- 19- Chan MF, Glyn Jones JC. Significance of thermal cycling in microleakage analysis of root restorations. *J Dent* 1994; 22: 292-95.
- 20- Dubois RJ, Kyriakakis P, Weiner S, Vaidyanathan TK. Effects of occlusal loading and Thermocycling on the marginal gaps of light-polymerized and autopolymerized resin provisional crowns. *J Prosthet Dent* 1999; 82 161-66.
- 21- Mandras RS, Retief DH, Russell CM. The effects of thermal and occlusal stresses on the microleakage of the scotch bond 2 dentinal bonding system. *Dent Mater* 1991; 7: 63-7.
- 22- Crim GA, Garcia-Godoy F. Microleakage: the effect of storage and cycling duration. *J Prosthet Dent* 1987; 37: 574-76.
- 23- ISO/ TR 11405. *Dental Materials-Guidance on testing of adhesion to tooth structure* . 1st ed. 1994; 12-15.
- 24- Munksgaard EC, Irie M. Effect of load-cycling on bond between composite fillings and dentin established by Gluma and various resins. *J Dent Res* 1988; 96: 579-83
- 25- Mohl ND, Zarb GA, Carlsson GE, Rugh JD. *A textbook of occlusion*. Chicago: Quintessence 1988: Chap10 .
- 26- Qvist V. The effect of mastication on marginal adaptation of composite restorations in-vivo. *J Dent Res* 1983; 62 904-6.

در این شماره فهرست برخی از همایشهای بین المللی به اطلاع همکاران ارجمند می رسد:

Title:	3rd Conference of Bahrain Dental Society, 1st Conference of Secretrial General of the Council of Dental Societies for the GCC
Date:	January 28, 2003 - January 30, 2003
City:	Manama
Country:	Bahrain
Contact:	Dr. Mohammed Al-Jishi
Phone:	00-973-723-767
Fax:	00-973-729-616
E-Mail:	bahds@batelco.com.bh

Title:	Evidence-Based Dentistry
Date:	February 03, 2003 - February 07, 2003
City:	Oxford
State/Province:	England
Country:	United Kingdom
Contact:	Course Administrator
Phone:	00-44-0-1-865-286-947
Fax:	00-44-0-1-865-286-934
E-Mail:	cpdhealth@conted.ox.ac.uk

Title:	Arthroscopic Surgery of the Temporomandibular Joint
Date:	February 17, 2003 - February 19, 2003
City:	Vienna
Country:	Austria
Contact:	Prof. Dr. Dr. Gerhard Undt
Phone:	43-1-404-004-259
Fax:	43-1-404-004-253
E-Mail:	gerhard.undt@akh-wien.ac.at

Title:	Computer Assisted Surgery Around the Head: Basic Research and Clinical Applications of CAS in ORL, Maxillo-Facial, Reconstructive and Dental Surgery
---------------	--

Date:	February 21, 2003 - February 22, 2003
City:	Interlaken
Country:	Switzerland
Contact:	Dr M Caversaccio
Phone:	41-336-324-174
Fax:	413-363-234-516
E-Mail:	marco.caversaccio@insel.ch

Title:	Pacific Dental Conference at Vancouver
Date:	March 06, 2003 - March 08, 2003
City:	Vancouver
State/Province:	BC
Country:	Canada
Contact:	Ms. Marilynne Webster
Phone:	604-714-5303
Fax:	604-736-3645
E-Mail:	marilyn@cdsbc.org

Title:	2nd International Conference on New Biomedical Materials
Date:	April 05, 2003 - April 08, 2003
City:	Cardiff
State/Province:	Wales
Country:	United Kingdom
Contact:	P.I. Haris
Phone:	00-44-1-162-506-306
Fax:	00-44-1-162-577-287
E-Mail:	pharis@dmu.ac.uk