

钕激光、半导体激光对窝洞消毒产热及抑菌效果的体外实验

<https://doi.org/10.12307/2021.235>梁潇月¹, 邹朝晖¹, 董晓曦², 张钰¹

投稿日期: 2020-06-18

送审日期: 2020-06-24

采用日期: 2020-07-29

在线日期: 2021-02-25

中图分类号:

R459.9; R781.1; R318

文章编号:

2095-4344(2021)34-05432-07

文献标识码: A

文章快速阅读:

文章亮点一

△激光防龋可有效克服长期使用抗生素所产生的细菌耐药性问题,对单一及混合致龋菌生物膜都有良好的抑制作用;但在灭菌同时,能量也会被牙本质中水分子吸收,从而导致牙髓腔内温度的瞬时升高;

△实验将临床普遍应用的3种激光进行安全性及有效性的横向对比研究,使临床医师应用不同种类的激光器时有理可查,有据可依,让激光充分发挥在口腔医学领域的优势。

实验分组

- (1) 将样本分成 Nd: YAP 激光组、810 nm 半导体(Diode)激光组、Nd: YAG 激光组、阳性对照组(5.25% NaClO 溶液)、阴性对照组(生理盐水);
- (2) 每激光组下设功率不同设 5 个亚组,功率依次为 0.9, 1.4, 1.8, 3.0, 4.0 W。

观察指标

- (1) 3 种激光窝洞消毒时,髓腔温度的变化;
- (2) 安全功率下的抑菌效果;
- (3) 3 种激光之间的抑菌差异。

结论

- (1) 各类激光在灭菌同时,髓腔温度升高值均在 5.5 °C 范围内,属于牙髓组织安全髓室温度的边界;
- (2) 3 种激光均可以有效杀菌,且当功率 ≥ 1.8 W 时,各类激光抑菌效果与 5.25%NaClO 无差异。

文题释义:

窝洞消毒: 窝洞预备好后,洞壁的牙本质小管中还残存少量细菌,为更好地消除残余感染,防止继发龋,充填前需做窝洞消毒。对窝洞消毒必须考虑其有效性、持久性和对牙髓的损害,并且窝洞无菌状态的维持有赖于充填材料对窝洞的完全密封。

钕激光: 临床上常用的有 Nd: YAG 和 Nd: YAP 激光器。倍频 532 nm Nd: YAG 是高能激光,在脉冲模式下瞬时产生的高能量可以使细菌气化,胞壁破裂,蛋白质变性凝固坏死,从而杀灭细菌。波长为 1 341 nm 的 Nd: YAP 激光,水吸收系数是 Nd: YAG 激光的 14.26 倍,可使组织凝固止血,具有较好的抗菌效果,针对口腔解剖结构设计,易操作。

摘要

背景: 局部高效的窝洞消毒手段可最大限度地杀灭窝洞内残存的细菌,从而扼制龋病的再次发生和发展。激光作为一种新型技术手段,通过激光的热效应及生物刺激效应破坏细菌的细胞膜从而杀灭细菌。

目的: 评价钕激光(Nd: YAP、Nd: YAG)、半导体激光(Diode)窝洞消毒的安全性及有效性。

方法: 收集完好的前磨牙并制备体外牙窝洞模型,分别用 Nd: YAP 激光、810 nm 半导体(Diode)激光、Nd: YAG 激光处理样本,利用热电偶温度测量仪监测髓腔内温度变化,菌落计数观察变形链球菌和乳酸杆菌的生长情况。

结果与结论: ①同一种激光下,髓腔温度随照射功率的增大而升高;②功率相同时,不同激光窝洞消毒,髓腔温度均有所升高且温升值小于引起牙髓坏死的温度 5.5 °C,当功率为 1.8, 4.0 W 时, Nd: YAP 激光温度高于 Nd: YAG 激光和半导体激光组($P < 0.05$);③菌落计数显示,同种激光下,随激光功率增大,菌落数明显减少,与阴性对照组(生理盐水组)相比,差异有显著性意义($P < 0.05$);④ 1.8 W、3.0 W、4.0 W 组与阳性对照组(5.25%NaClO 溶液)相比差异无显著性意义($P > 0.05$);⑤综合安全性、有效性及最小功率原则,3 种激光在窝洞消毒时可选择最佳功率为 1.8 W。

关键词: 钕激光; Nd: YAP; Nd: YAG; 半导体激光; 热效应; 髓腔温度; 窝洞消毒

缩略语: 胰蛋白胨大豆肉汤: trypticase soy broth, TSB; 胰蛋白胨大豆琼脂: trypticase soy agar, TSA

Heat production and bacteriostatic effect of neodymium laser and semiconductor laser on cavity disinfection: *in-vitro* studyLiang Xiaoyue¹, Zou Zhaohui¹, Dong Xiaoxi², Zhang Yu¹

¹Department of Endodontics, School of Stomatology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; ²Institute of Biomedical Engineering, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China

Liang Xiaoyue, Master, Department of Endodontics, School of Stomatology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Zou Zhaohui, MD, Chief physician, Department of Endodontics, School of Stomatology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

¹天津医科大学口腔医学院牙体牙髓科,天津市 300070; ²中国医学科学院,北京协和医学院生物医学工程研究所,天津市 300192

第一作者: 梁潇月,女,1993 年生,2019 年天津医科大学毕业,硕士,主要从事口腔临床医学方面的研究。

通讯作者: 邹朝晖,博士,主任医师,天津医科大学口腔医学院牙体牙髓科,天津市 300070

<https://orcid.org/0000-0003-1878-1653> (梁潇月)

基金资助: 天津市自然科学基金(18JCYBJC95700),项目参与者: 邹朝晖

引用本文: 梁潇月,邹朝晖,董晓曦,张钰.钕激光、半导体激光对窝洞消毒产热及抑菌效果的体外实验[J].中国组织工程研究,2021,25(34):5432-5438.



Abstract

BACKGROUND: Local effective disinfection method can kill the bacteria to the maximum extent, so as to prevent the recurrence and development of caries. As a new technology, laser destroys the cell membrane of bacteria through its thermal and biological stimulation effects.

OBJECTIVE: To evaluate the safety and effectiveness of cavity disinfection with neodymium laser (Nd:YAP, Nd:YAG) and semiconductor laser (Diode).

METHODS: The intact premolars were collected and the isolated alveolar cavity model was prepared. Samples should be processed with Nd:YAP laser, 810 nm semiconductor (Diode), and Nd:YAG laser, separately. The pulp temperature was monitored by thermocouple temperature measuring instrument. The growth of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* was observed by colony counting.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) The pulp temperature increased with the increase of irradiation power. (2) At the same power, different laser disinfection, the temperature was increased and less than the pulp necrosis 5.5 °C, when the power was 1.8 and 4.0 W. Nd:YAP laser temperature was higher than Nd:YAG laser and semiconductor laser group ($P < 0.05$). (3) Colony count showed that with the same laser, the number of colonies decreased significantly with the increase of laser power; compared with the negative control group (normal saline group), the difference was statistically significant ($P < 0.05$). (4) There was no statistical difference between 1.8 W, 3.0 W, and 4.0 W groups and positive control group (5.25% NaClO solution) ($P > 0.05$). (5) The results show that, based on the principles of safety, effectiveness and minimum power, the optimal power that can be selected for the three kinds of lasers in the disinfection of cavities is 1.8 W.

Key words: neodymium laser; Nd:YAP; Nd:YAG; semiconductor laser; thermal effect; pulp temperature; cavity disinfection

Funding: the Natural Science Foundation of Tianjin, No. 18JCYBJC95700 (to ZZH)

How to cite this article: LIANG XY, ZOU ZH, DONG XX, ZHANG Y. Heat production and bacteriostatic effect of neodymium laser and semiconductor laser on cavity disinfection: in-vitro study. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2021;25(34):5432-5438.

0 引言 Introduction

龋病是发病率极高的、牙体硬组织慢性细菌感染性疾病，影响牙齿的形态功能，引发疼痛，危害口腔健康。细菌是首要的决定性因素，其中变形链球菌是主要致龋菌，对牙面有高度的选择性和亲和力，糖产酸的速度较血链球菌、轻链球菌等其他口腔细菌快，菌落表面 pH 值低，这种产酸力与细菌对牙面直接破坏有关^[1-2]；乳杆菌是口腔内的仅次于变形链球菌的致龋菌，在有氧和无氧条件下均能良好生长，特别是在有氧条件下，氧及其代谢产物超氧化物阴离子自由基、羟自由基和过氧化氢等活性氧对糖的代谢及菌斑微生态具有重要作用。有学者从患龋者口中取样，发现乳杆菌检出率高达 62.5%^[3]，它不是龋病开始的原因，而是龋病进展的结果。变形链球菌和乳杆菌是主要与龋发生有关的细菌，其中后者在牙本质龋中发挥着作用^[4]。

目前临床上常见的窝洞消毒的方法包括机械手段、抗菌药物、化学机械手段等，然而高速涡轮钻去除腐质过程中，有可能增加露髓、疼痛风险，从而引起患者焦虑心理，造成牙科恐惧症^[5-6]；长期使用抗菌剂会使牙菌斑生物膜产生耐药性，引起口腔菌群失调。有学者研究发现在质量浓度为 2 500 mg/L 的青霉素作用下，变形链球菌生物膜中细菌仍未被全部杀死，表现出较高的抗生素耐受性；在静止期或生长速率较低时期的 *S.mutans*，激光共聚焦扫描显微镜下观察，其灭菌效果差，表现出较高的抗药性^[7-8]；还有学者用硝酸银和碘伏联合消毒中龋预备的窝洞^[9]，高浓度的硝酸银能够杀灭细菌，但由于其具有较强的腐蚀性易造成软组织灼伤；另外硝酸银可以使牙齿颜色变黑，临床应用较局限。曾有学者常规去腐备洞后使用丁香油消毒龋洞引起患者全身性重度过敏反应^[10]。临床上迫切需要一种新方法，既能达到突出的杀菌效果，也对机体安全、无毒副作用。

激光作为一种新型技术手段可以通过其热效应破坏细菌的细胞膜而杀灭细菌^[11-14]，临床操作简便，靶向定位准确，所以，应用激光进行窝洞消毒具有较好的临床应用价值。口腔属于局部环境，采用特定部位抗微生物的方法，可降低药

物对于全身系统的影响。局部高效的窝洞消毒手段可以最大限度杀灭窝洞内残存的细菌，从而扼制龋病的再次发生和发展。此次研究通过高速手机裂钻在体外前磨牙的釉面制备 G.V, Black I 类洞，并人工植入变形链球菌和乳酸杆菌的混合菌悬液，模拟牙本质龋损环境，利用钕激光 (Nd: YAP、Nd: YAG) 以及半导体激光分别进行窝洞消毒，观察髓腔温度的变化及细菌生长状况，评价激光灭菌的安全性、有效性，为临床激光的规范化应用提供基础依据。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照体外实验。

1.2 时间及地点 于 2017 年 12 月至 2018 年 6 月在天津医科大学口腔医学院中心实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 离体牙收集 选取天津医科大学口腔医院口腔颌面外科门诊因正畸拔除新鲜健康的前磨牙 85 颗，患者均已签署知情同意书，选择牙冠完整、无龋、显微镜下无裂纹的牙齿。

1.3.2 实验菌株与培养基 变形链球菌 (*Streptococcus mutans*, *S.mutans*)，乳酸杆菌 (*Lactic acid bacteria*, *L.acidophilus*)，胰蛋白胨大豆肉汤 (trypticase soy broth, TSB)，胰蛋白胨大豆琼脂 (trypticase soy agar, TSA)。

1.3.3 主要设备与仪器 810 nm 半导体激光器 (PILOT, 美国)，Nd: YAG 激光器 (DEKA, 意大利)，Nd: YAP 激光器 (LOKKI, 法国)，光学显微镜 (OLMPUS, 日本)，热电偶温度测量仪 (中国医学科学院生物医学工程研究所激光医学实验室)，激光功率计 (Gentec-Eo, 加拿大)，见图 1。

1.4 方法

1.4.1 样本制备

(1) 离体牙处理：超声洁治去除表面牙石，刮匙刮除表面软组织，体积分数 3% H₂O₂ 溶液消毒 24 h。定位釉牙骨质界下 2 mm，高速手机截冠截根，暴露髓室底，拔髓针去除髓腔内残留的牙髓组织，生理盐水冲洗 1 min 后，将牙冠保存生理盐水中备用，保存时间少于 4 周。

用高速手机裂钻在牙冠殆面制备大小为 2 mm×2 mm×2 mm 的窝洞,生理盐水冲洗窝洞,无菌棉球擦拭,三用气枪吹干窝洞。用移液枪将配好的混合菌悬浊液 10 μL 滴入制备好的窝洞内,厌氧培养 24 h,生理盐水冲洗窝洞,吹干备用(图 2)。

(2) 制备混合菌悬浊液:将冻存的变形链球菌、乳酸杆菌常温下复苏 48 h,用接种环在超净台内挑取菌液,在 TSA 固体培养基内,用四分区划线法平板涂布于培养基中,分别接种。在厌氧环境下(体积分数 80%N₂, 10%H₂, 10%CO₂)倒置放入 37 °C 恒温培养箱内孵育 48 h。光学显微镜下观察革兰氏染色挑取的单菌落,并行形态学检查鉴定。鉴定为纯培养后,将皿上的单一菌落挑入到 5 mL 的 TSB 液体培养基内厌氧培养 48 h。将两种细菌菌液按 1 : 1 的比例混合,用 TSB 液体培养基调配成浓度为 1×10¹¹ CFU/L 的混合菌悬液备用。

1.4.2 实验步骤

(1) 实验分组:将样本随机分成 5 组,分别为 Nd: YAP 激光组、810 nm 半导体(Diode)激光组、Nd: YAG 激光组、阳性对照组(5.25%NaClO 溶液)、阴性对照组(生理盐水)。其中每激光组下按功率不同设 5 个亚组,功率包括 0.9, 1.4, 1.8, 3.0, 4.0 W, 每亚组样本数量为 5 个,阳性对照组及阴性对照组样本数量均为 5 个。

(2) 检测激光器:将激光功率能量计探测器、显示器分别连接 3 台激光器,预热 15 min,使探头位于探测器正上方,让激光发出光斑照射在探测器石墨盘上,选取 0.9, 1.4, 1.8, 3.0, 4.0 W 进行检测,验证激光器连接完好无能量损耗,可用于实验。注意激光探头与探测器石墨盘之间的距离要把握好,一般为 2 cm 左右,距离太近,瞬时能量密度增大,易损坏石墨盘。使用功率计时,选择与相应激光器相同的波长下进行检测,注意波长的调换。

(3) 校正热电偶温度测量仪:连接温测仪和电脑显示器,选择时间间隔为 50 ms,预热 3 min。校正时将金属探头置于沸水 100 °C 及冰水混合物 0 °C 中。为避免因操作者体温影响实验数据,造成误差,应注意操作过程中,不可直接接触金属探头。

(4) 温度测试:测定室温(26 °C)下每个样本初始温度 T₀,不同激光照射时,测定每个样本的髓腔即刻温度 T_i并记录。温度变化 ΔT 的计算公式为 ΔT=T_i-T₀。

所用的激光器参数:波长 1 341 nm Nd: YAP 激光、频率 5 Hz、光纤直径 200 μm;波长 1 064 nm Nd: YAG 激光、频率 20 Hz、光纤直径 200 μm;波长 810 nm 半导体、频率 10 Hz、光纤直径 400 μm。照射方式:脉冲模式、时间 30 s、距离 10 mm、与牙面呈 45°角移动照射;输出功率为 0.9, 1.4, 1.8, 3.0, 4.0 W。

次氯酸钠阳性对照组用无菌棉球蘸取 5.25%NaClO 溶液;阴性对照组用无菌棉球蘸取生理盐水溶液,使棉球完全浸湿,置于窝洞内 1 min。同时测定每个样本的髓腔即刻温度 T_i并记录(图 3)。

(5) 菌落计数及抗菌率计算:处理完成后,各样本均用 5 mL 生理盐水冲洗窝洞 1 min,无菌棉球擦拭并转移到含 5 mL 生理盐水的离心管中,使用 VOTEX 涡旋器重悬管中细菌,经连续稀释后,将每种稀释液等分试样涂抹在脑心浸液(TSA)琼脂培养基上。放置在 37 °C,厌氧环境中培养 48 h 后进行平板菌落计数。并计算抑菌率 R:

$$R=(B-A)/B \times 100\%$$

其中 A 为各组表面的活细菌数, B 为阴性对照组(生理盐水)表面的活细菌数。

1.5 主要观察指标 ①热电偶温度测量仪测定各组髓腔温度变化;②平板菌落计数观察各组活菌数量;③计算抗菌率,各类激光不同参数下抑菌效果。

1.6 统计学分析 实验数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,所得的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析;处理组间的两两比较采用最小显著性差异 t 检验,以 P < 0.05 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 激光窝洞消毒对髓腔温度的影响 见表 1 及图 4。

表 1 | 各处理组髓腔温度的变化

Table 1 | Temperature change in pulp cavity of each group

组别	所用功率 (W)	样本数量	髓腔温度变化 ($\bar{x} \pm s$, °C)
Nd: YAP 激光组	0.9	5	0.91±0.16
	1.4	5	1.80±0.22 ^a
	1.8	5	2.13±0.27 ^{ab}
	3	5	2.40±0.26 ^a
	4	5	3.75±0.27 ^{ab}
半导体激光组	0.9	5	0.82±0.25
	1.4	5	1.40±0.24 ^a
	1.8	5	1.56±0.32 ^{ab}
	3	5	2.18±0.26 ^a
	4	5	2.78±0.39 ^{ab}
Nd: YAG 激光组	0.9	5	0.78±0.16
	1.4	5	1.55±0.11 ^a
	1.8	5	1.96±0.37 ^a
	3	5	2.36±0.12 ^a
	4	5	3.13±0.17 ^{ab}
阳性对照组	-	5	0
阴性对照组	-	5	0

表注:同种激光中,与 0.9 W 组相比,^aP < 0.05;相同功率,不同激光组间比较,^bP < 0.05

(1) 同一种激光,在不同功率下窝洞消毒时,髓腔温度随照射功率的增大而升高,且功率越大,髓腔升温越多,但各组髓腔温度升高值均小于 5.5 °C;

Nd: YAP 激光组中,1.8 W 组与 3.0 W 组相比,差异无显著性意义(P > 0.05);0.9 W、1.4 W、4.0 W 3 组之间两两比较,差异有显著性意义(P < 0.05);1.8 W、3.0 W 组分别与 0.9 W、1.4 W、4.0 W 组比较,差异有显著性意义(P < 0.05)。

半导体(Diode)激光组中,1.4 W 组与 1.8 W 组相比,差异无显著性意义(P > 0.05);0.9 W、3.0 W、4.0 W 3 组之间两两比较,差异有显著性意义(P < 0.05);1.4 W、1.8 W 组分别与 0.9 W、3.0 W、4.0 W 组比较,差异有显著性意义(P < 0.05)。

Nd: YAG 激光组中, 5 组之间两两比较, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。

(2) 功率相同, 不同激光窝洞消毒时, 髓腔温度均会有所升高且温升值小于 $5.5\text{ }^{\circ}\text{C}$; 功率为 $0.9, 1.4, 3.0\text{ W}$ 时, 3 组之间差异无显著性意义 ($P > 0.05$); 功率为 1.8 W 时, Nd: YAP 激光组与半导体激光组之间, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$); 功率为 4.0 W 时, 3 组之间差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。

2.2 激光处理窝洞后菌落计数 见表 2 及图 5, 6。

表 2 | 各处理组菌落计数的比较

Table 2 | Comparison of colony count of each treatment group

组别	所用功率 (W)	样本数量	CFU/mL($\bar{x}\pm s_z$)	杀菌率 (%)
Nd: YAP 激光组	0.9	5	8.75 ± 2.82^{ab}	60
	1.4	5	5.75 ± 1.75^{ab}	74
	1.8	5	2.87 ± 1.03^a	87
	3	5	1.87 ± 1.64^a	91
	4	5	1.00 ± 0.76^a	95
半导体激光组	0.9	5	15.75 ± 4.89^{ab}	28
	1.4	5	9.25 ± 2.81^{ab}	58
	1.8	5	4.50 ± 1.93^a	79
	3	5	1.62 ± 1.41^a	93
	4	5	1.12 ± 0.99^a	95
Nd: YAG 激光组	0.9	5	12.50 ± 2.60^{ab}	43
	1.4	5	8.00 ± 2.92^{ab}	63
	1.8	5	3.62 ± 2.20^a	83
	3	5	1.37 ± 1.18^a	94
	4	5	1.00 ± 1.19^a	95
阳性对照组	5.25%NaClO	5	0.75 ± 0.71	97
阴性对照组	生理盐水	5	21.87 ± 7.32	0

表注: 与阴性对照组相比, $^aP < 0.05$; 与阳性对照组相比, $^bP < 0.05$

(1) 同种激光, 不同功率窝洞消毒效果, 随激光功率增大, 菌落数明显减少。

与阴性对照组 (生理盐水组) 相比, 所有激光处理组 ($0.9\text{ W}, 1.4\text{ W}, 1.8\text{ W}, 3.0\text{ W}, 4.0\text{ W}$ 组) 均显示菌落数量减少, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$);

与阳性对照组 ($5.25\%\text{NaClO}$ 组) 相比, 0.9 W 组与 1.4 W 组菌落数多, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$), $1.8\text{ W}, 3.0\text{ W}, 4.0\text{ W}$ 组与阳性对照组相比差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。

在 Nd: YAP、半导体、Nd: YAG 各组中, $0.9\text{ W}, 1.4\text{ W}$ 组与 $1.8\text{ W}, 3.0\text{ W}, 4.0\text{ W}$ 组之间两两比较差异有显著性意义 ($P < 0.05$); 0.9 W 组与 1.4 W 组之间差异有显著性意义 ($P < 0.05$); $1.8\text{ W}, 3.0\text{ W}, 4.0\text{ W}$ 组两两比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。

(2) 相同功率下, 不同激光组之间菌落计数结果如下:

当功率为 0.9 W 时, 半导体激光组菌落数较多 ($P > 0.05$), Nd: YAG 和 Nd: YAP 组菌落数较少 ($P < 0.05$);

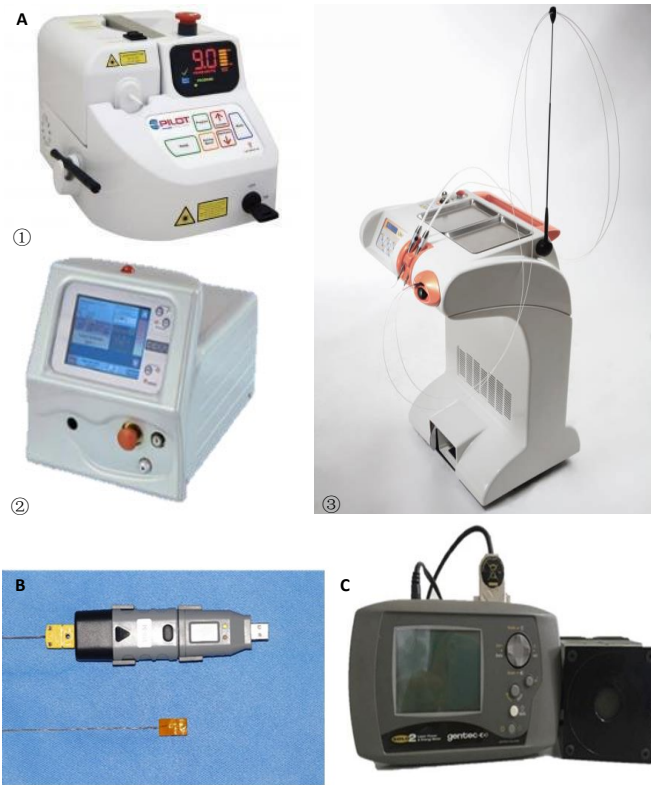
当功率为 $1.4, 1.8, 3.0, 4.0\text{ W}$ 时, 3 组之间菌落数相比差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论 Discussion

目前临床上常用的激光包括钕激光 (Nd: YAP、Nd: YAG)、半导体激光 (Diode)、钇激光 (Er: YAG) 等。波长为 $1\ 341\text{ nm}$ 的 Nd: YAP 激光用于软组织止血、消炎、灭菌、

根管治疗和再治疗、牙本质敏感、美白等, 波长适中, 对水、血红素和金属吸收性好, 水吸收系数是 Nd: YAG 激光的 14.26 倍, 可使组织凝固止血, 具有较好的抗菌效果^[15]。倍频 532 nm 激光掺钕钇铝石榴石激光 (Nd: YAG) 为高能激光, 用于止血、牙周袋及根管消毒、软组织成形等, 长光纤传导, 波长长于半导体激光, 能量高于半导体激光^[16-17]。波长为 810 nm 半导体激光为低能量激光, 用于止血、消毒、软组织修整, 光纤传导、其生物刺激效应和生物促进效应对组织作用的原理^[18-19]。而钇激光 (Er: YAG) 又称为硬组织激光, 波长为 $2\ 940\text{ nm}$, 主要用途为对软、硬组织切割, 效率高, 在口腔领域多用于种植体周围炎的治疗, 切割牙体、牙槽骨及软组织、去腐备洞、去除玷污层等, 对水的吸收性最好, 为短脉冲发射方式, 而且不同治疗需更换不同工作激光头并接冷却水和气泵^[20-21]。4 种临床常用激光选择性吸收光谱如图 7 所示。此次实验主要探讨牙体硬组织——牙本质患龋后, 激光对窝洞消毒的安全性及灭菌有效性, 故选择口腔科常用的两种钕激光 (Nd: YAP、Nd: YAG) 以及半导体 (Diode) 激光照射体外的感染窝洞体外牙模型。设定相同照射时间、不同功率, 监测髓腔温度的变化评价 3 种激光窝洞消毒的安全性, 并观察在安全功率下的抑菌效果。由于 Nd: YAP 激光器的功率参数是固定不可调置的, 包含的功率值有 $0.9, 1.4, 1.8, 3.0, 4.0, 5.0, 7.5, 10.0\text{ W}$, 其中, $5.0, 7.5, 10.0\text{ W}$ 为 Nd: YAP 激光牙体硬组织治疗模式, 用于根管桩、断针的去除、根管再治疗等, 因此以 Nd: YAP 激光器的功率为参考, 选择临床上可用于牙体软、硬组织消毒灭菌的参数值为 $0.9, 1.4, 1.8, 3.0, 4.0\text{ W}$, 照射时间为 30 s 。

激光灭菌同时, 能量会被牙本质中的水分子吸收, 其热效应产生的瞬时热量可通过组织传导至牙髓腔内, 导致髓腔温度升高。正常健康的牙髓组织对热量的耐受是有限的, 短时间内牙髓腔的巨大温升会对牙髓组织造成不可逆转的损害甚至坏死^[22]。因此, 激光照射窝洞时对牙髓组织的安全是值得关注的^[23]。此次实验结果显示, 照射时间相同时, 输出功率越大, 髓腔温度升高越多; 功率为 4 W 时引起的髓腔温度升高最多, 为 $(3.75\pm 0.27)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。有学者研究发现, 髓腔在激光照射牙髓组织时, $3\text{--}5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温升值是安全的, 牙髓尚有活性, 然而造成牙髓组织活性不可逆丧失的温升值超过 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ^[24-25]。而 BALDISSARA 等^[26]学者认为, 牙髓组织在 $8.9\text{--}14.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ 髓腔温升值范围内, 有良好的牙髓活性。ZACH 等^[27]研究灵长类动物模型发现: 引起 15% 牙髓组织坏死, 髓腔内温度升高超过 $5.5\text{ }^{\circ}\text{C}$; 导致 80% 牙髓组织活性丧失和坏死温升值已达 $11.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。虽然对牙髓组织安全的髓室温度界定尚未有定论, 但经过大量文献的考量和比对, 选 $5.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 作为此次研究髓室温升值的安全边界温度。故此次实验中, 最大温升值低于 $5.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, 基本是安全的。实验中应用的热电偶温度测量仪金属探头是一个矩形的金属面 (图 2), 探头不会接触到髓室各轴壁, 引起温度测量不准确而造成实验误差, 所以激光通过牙本质传导到髓腔内的热量更为客观直接。



图注：图 A 中①-③分别为 810 nm 半导体激光器、Nd: YAG 激光器、Nd: YAP 激光器；B 为热电偶温度测量仪；C 为激光功率计
图 1 | 实验设备与仪器

Figure 1 | Experimental equipment and instruments

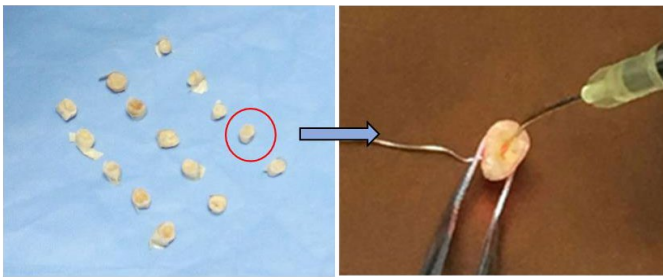


图 2 | 窝洞预备后洞型
Figure 2 | Hole of cavity after preparation

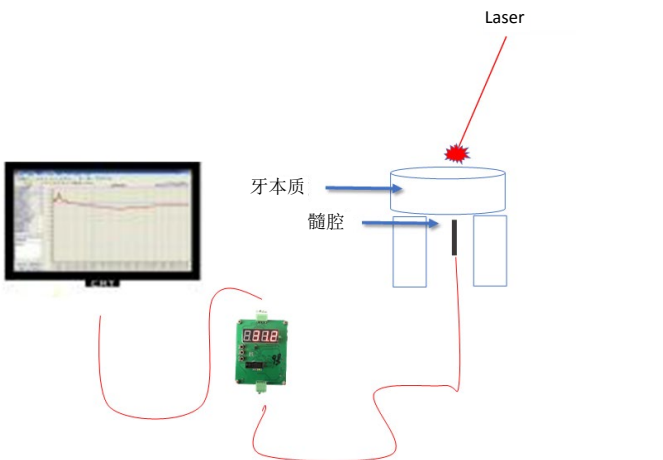
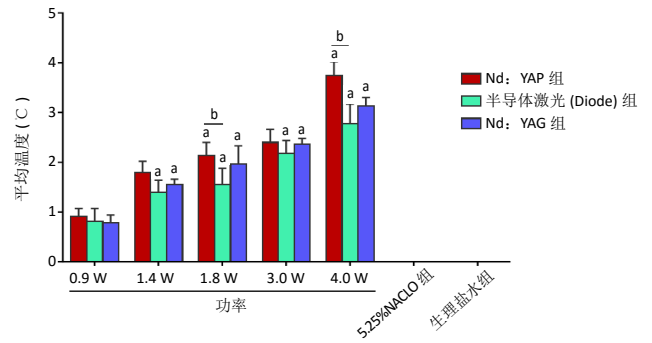


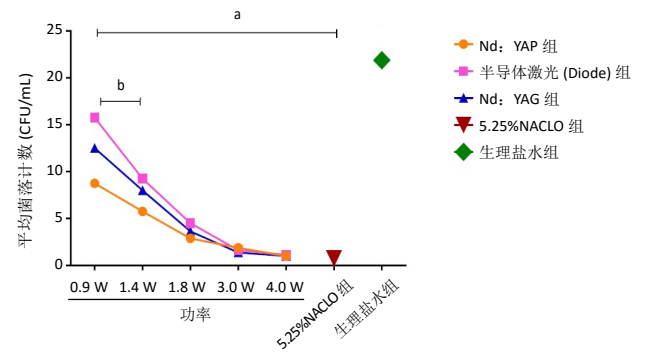
图 3 | 髓腔温度测试
Figure 3 | Pulp temperature test



图注：同种激光，与 0.9 W 组相比，^a $P < 0.05$ ；相同功率，不同激光组间比较，^b $P < 0.05$

图 4 | 各处理组髓腔温度变化

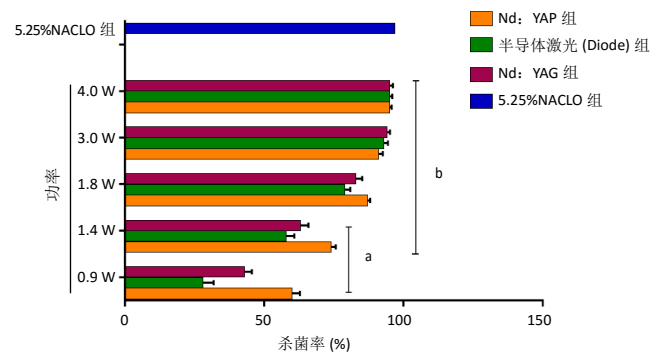
Figure 4 | Temperature change of the pulp cavity in each treatment group



图注：与生理盐水组相比，^a $P < 0.05$ ；与 5.25% NaClO 组相比，^b $P < 0.05$

图 5 | 各组平均菌落计数比较

Figure 5 | Comparison of mean colony count in each group



图注：与 5.25% NaClO 组相比，^a $P < 0.05$ ；与 0.9 W 组相比，^b $P < 0.05$

图 6 | 各组杀菌率比较

Figure 6 | Comparison of sterilization rate of each group

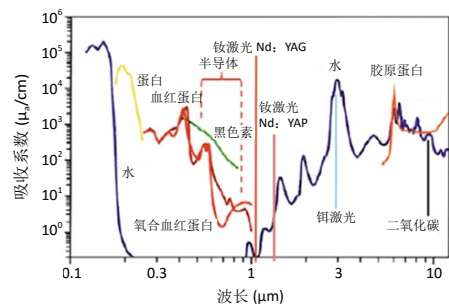


图 7 | Nd: YAP、半导体激光 (Diode)、Nd: YAG 选择性吸收光谱

Figure 7 | Selective absorption spectrum of Nd:YAP, semiconductor laser (Diode), and Nd:YAG

在此次实验中,功率相同时,Nd:YAP激光引起的髓腔温度升高值高于Nd:YAG激光和半导体激光,且当功率为1.8W时,髓腔温升值为(2.13±0.27)℃,与半导体激光组之间差异有显著性意义($P < 0.05$);功率为4.0W时,3组之间差异有显著性意义($P < 0.05$)。分析Nd:YAP为聚焦性能良好的激光,当作用集中在窝洞时,被牙体组织吸收后瞬间产生的高能聚焦激光,可有效、快速杀灭细菌,用于窝洞消毒,离开后,散开成低能量激光(生物刺激效果),能激发组织活性,加速组织再生^[28-29]。然而同功率下,半导体激光组髓腔升温值低于Nd:YAP、Nd:YAG激光,在1.8W时髓腔温升值仅为(1.56±0.32)℃。810nm半导体激光距离水的吸收峰(2940nm)相比1341nmNd:YAP激光、1064nmNd:YAG激光远,更接近黑色素和血红蛋白的吸收峰^[30-31],所以相同输出功率下,激光转化的热量少于其他两个激光,传到髓腔内热量也较少,故半导体激光温升值低。

窝洞预备好后,根据龋洞进展情况,洞壁牙本质小管还会残存部分或多数细菌,为更好地消除残余感染,防止继发龋,充填前需作窝洞消毒。激光照射窝洞后,菌落计数结果显示:与阴性对照组(生理盐水组)相比,3种激光均可有效杀灭洞内的细菌,功率越大,杀菌效果越好;且当功率为1.8,3.0,4.0W时,3种激光的菌落计数与阳性对照组(5.25%NaClO溶液组)相比差异无显著性意义($P > 0.05$),1.8,3.0W时杀菌率分别达80%、90%及以上,4W时杀菌率可高达95%,阳性对照组杀菌率为96%。实验中3种激光照射方式均设定在脉冲模式下,作用能力强,Nd:YAP和Nd:YAG激光热效应使细菌气化,胞壁破裂,蛋白质变性凝固坏死,从而杀灭细菌^[32-33];但因传输方式不同于连续式热量,作用目标组织时,极大降低了热量积聚,不会对靶向组织造成损害;半导体(Diode)激光则是依赖于其光生物刺激作用灭菌^[34],有学者用原子力显微镜观察半导体激光根管消毒后的细菌发现:激光可以使细菌表面出现白纹、胞内容物外渗,膜胞小孔融合甚至会出现细菌溶解现象^[35]。激光具有一定的渗透性,可以到达机械设备不可到达的部位。3种激光之间相互比较菌落计数结果发现,功率相同时Nd:YAP激光的杀菌效果优于其余两种激光,然而半导体激光杀菌效果稍差于Nd:YAP、Nd:YAG)。Nd:YAP为短脉冲激光,瞬间峰值能量为2600W,并具有较好水吸收性^[32,36];Nd:YAG次之,瞬间峰值能量为2500W,这两种激光均为高能量激光,灭菌主要通过激光的光热效应,以短脉冲方式发射的激光可以获得瞬间高能量(治疗的有效性,同时每个脉冲间隔期保证充分的冷却时间,可以降低对组织的热损伤(治疗的安全性)^[37];然而半导体激光属于低能量激光,峰值功率较低(为10W级),主要通过激光的生物刺激效应灭菌,且不损伤组织和细胞^[38]。SIQUEIRA等^[39]的实验研究发现,半导体激光可渗入牙本质小管1000μm处,明显深于常规化学消毒剂的渗透深度100μm。因此激光更有效地杀灭牙本质小管内部的细菌。当功率≥1.8W时3种激光抑菌效果与5.25%NaClO相比差异无显著性意义($P > 0.05$),证

实激光可以有效灭菌。CAFER等^[40]学者用1064nmNd:YAG激光照射离体牙牙本质,设定功率3W、照射时间30s,而后在照射区用扫描电子显微镜发现大量的炭化层。因此,无论选用何种激光,选择合适的功率参数是非常有必要的,综合安全性、有效性及最小功率原则,3种激光在窝洞消毒时可选择最佳功率为1.8W,Nd:YAP激光效果略优于其他两者。由于功率越高,抑菌效果越好,但对于牙本质小管、牙髓组织、细胞因子等影响,仍需进一步实验阐明。

临床上,口腔内的唾液、牙周组织、牙髓组织血液循环系统等口腔内的温湿环境,会运走部分热量而避免牙髓组织损伤,体外实验是很难模拟口内血运循环系统的,因而在此次实验中,为尽可能模拟临床操作环境,保持窝洞相对潮湿。干燥的窝洞,激光照射消毒时,组织会直接吸收其能量产热,造成局部能量累积。随着激光进入口腔医学临床诊疗阶段,众多种类的激光器和治疗各种参数大多是厂家和医师根据自身临床经验提供、选择的,没有统一的规范化标准,而国内外学者大都致力于研究激光灭菌的有效性,忽略了激光消毒时所产生的热能对牙髓等牙体软组织的安全性,亦缺乏不同类激光灭菌安全性及有效性的横向对比研究。此次研究旨在对临床常用激光治疗参数进行验证和比对,希望临床医师、尤其对于缺乏激光经验的医师,在使用不同种类激光器时有理可查,有据可依,让激光充分发挥在口腔医学领域的优势。

致谢:感谢天津医科大学口腔医学院中心实验室、中国医学科学院北京协和医学院生物医学工程研究所的支持。

作者贡献:梁潇月进行实验实施、数据分析及后期论文撰写,实验设计、文章审校及实验评估为邹朝晖,董晓曦、张钰帮助实验实施。

经费支持:该文章接受了“天津市自然科学基金(18JCYBJC95700)”的基金资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突:文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程,不存在利益冲突。

机构伦理问题:该研究方案的实施符合《赫尔辛基宣言》和天津医科大学口腔医学院对研究的相关伦理要求。

写作指南:该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

文章查重:文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审:文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

生物统计学声明:文章统计学方法已经天津医科大学生物统计学专家审核。

文章版权:文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明:这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] LEMOS JA, PALMER SR, ZENG L, et al. The Biology of Streptococcus mutans. Microbiol Spectr. 2019;7(1):10.

- [2] PHILIP N, SUNEJA B, WALSH L. Beyond Streptococcus mutans: clinical implications of the evolving dental caries aetiological paradigms and its associated microbiome. *Br Dent J.* 2018;224(4):219-225.
- [3] BYUN R, NADKARNI MA, CHHOUR KL, et al. Quantitative analysis of diverse Lactobacillus species present in advanced dental caries. *J Clin Microbiol.* 2004;42(7):3128-3136.
- [4] WASFI R, ABD EL-RAHMAN OA, ZAFER MM, et al. Probiotic Lactobacillus sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing Streptococcus mutans. *J Cell Mol Med.* 2018;22(3):1972-1983.
- [5] MANSKI RJ, MEYERHOEFER CD. Projecting the Demand for Dental Care in 2040. *J Dent Educ.* 2017;81(8):eS133-eS145.
- [6] 周学东, 凌均策, 梁景平, 等. 龋病临床治疗难度因素及处理 [J]. *华西口腔医学杂志.* 2017,35(1):1-7.
- [7] MCLEOD FS, SIMMONDS RS. Penicillin facilitates the entry of antisense constructs into Streptococcus mutans. *FEMS Microbiol Lett.* 2013; 349(1):25-31.
- [8] PROSSER BL, TAYLOR D, DIX BA, et al. Method of evaluating effects of antibiotics on bacterial biofilm. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987; 31:1502-1506.
- [9] 陈才香. 硝酸银和碘伏消毒后牙敏感中龋窝洞的临床疗效 [J]. *海南医学.* 2005,16(4):53-48.
- [10] 杨金洪. 丁香油消毒龋洞引起过敏一例 [J]. *华西口腔医学杂志.* 1990,8(4):275.
- [11] AZIZI A, SHOHRATI P, GOUDARZI M, et al. Comparison of the effect of photodynamic therapy with curcumin and methylene Blue on streptococcus mutans bacterial colonies. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019;27:203-209.
- [12] TERRA GARCIA M, CORREIA PEREIRA AH, FIGUEIREDO-GODOI LMA, et al. Photodynamic therapy mediated by chlorin-type photosensitizers against Streptococcus mutans biofilms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;24:256-261.
- [13] AYTAC BAL F, OZKOCAK I, CADIRCI BH, et al. Effects of photodynamic therapy with indocyanine green on Streptococcus mutans biofilm. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019;26:229-234.
- [14] NEMEZIO MA, DE SOUZA FARIAS SS, BORSATTO MC, et al. Effect of methylene blue-induced photodynamic therapy on a Streptococcus mutans biofilm model. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017;20:234-237.
- [15] LIU T, HUANG Z, JU Y, et al. Bactericidal efficacy of three parameters of Nd:YAP laser irradiation against Enterococcus faecalis compared with NaOCl irrigation. *Lasers Med Sci.* 2019;34(2):359-366.
- [16] GRZECH-LEŚNIAK K, SCULEAN A, GAŠPIRC B. Laser reduction of specific microorganisms in the periodontal pocket using Er:YAG and Nd:YAG lasers: a randomized controlled clinical study. *Lasers Med Sci.* 2018;33(7):1461-1470.
- [17] GRANEVIK LINDSTRÖM M, WOLF E, FRANSSON H. The Antibacterial Effect of Nd:YAG Laser Treatment of Teeth with Apical Periodontitis: A Randomized Controlled Trial. *J Endod.* 2017;43(6):857-863.
- [18] MATARESE G, RAMAGLIA L, CICCÌ U, et al. The Effects of Diode Laser Therapy as an Adjunct to Scaling and Root Planing in the Treatment of Aggressive Periodontitis: A 1-Year Randomized Controlled Clinical Trial. *Photomed Laser Surg.* 2017;35(12):702-709.
- [19] SARDA RA, SHETTY RM, TAMRAKAR A, et al. Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy, diode laser, and sodium hypochlorite and their combinations on endodontic pathogens. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019;28:265-272.
- [20] KORKUT E, TORLAK E, GEZGIN O, et al. Antibacterial and Smear Layer Removal Efficacy of Er:YAG Laser Irradiation by Photon-Induced Photoacoustic Streaming in Primary Molar Root Canals: A Preliminary Study. *Photomed Laser Surg.* 2018;36(9):480-486.
- [21] GRZECH-LEŚNIAK K, MATYS J, JURCZYŹYŹN K, et al. Histological and Thermometric Examination of Soft Tissue De-Epithelialization Using Digitally Controlled Er:YAG Laser Handpiece: An Ex Vivo Study. *Photomed Laser Surg.* 2018;36(6):313-319.
- [22] SANTIS LR, SILVA TM, HADDAD BA, et al. Influence of dentin thickness on intrapulpal temperature under simulated pulpal pressure during Nd:YAG laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2017;32(1):161-167.
- [23] KHOUIJA F, ABDELAZIZ M, BORTOLOTTI T, et al. Intra-pulpal and subsurface temperature rise during tooth irradiation with 808 nm diode laser: an in vitro study. *Eur J Paediatr Dent.* 2017;18(1):56-60.
- [24] CHO H, LEE RC, CHAN KH, et al. Assessment of radicular dentin permeability after irradiation with CO2 laser and endodontic irrigation treatments with thermal imaging. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng.* 2017; 10044:100440K.
- [25] KIVANC BH, ARISU HD, SAĞLAM BC, et al. Evaluation of antimicrobial and thermal effects of diode laser on root canal dentin. *Niger J Clin Pract.* 2017;20(12):1527-1530.
- [26] BALDISSARA P, CATAPANO S, SCOTTI R. Clinical and histological evaluation of thermal injury thresholds in human teeth: preliminary study. *J Oral Rehabil.* 1997;24:791-801.
- [27] ZACH L, COHEN G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;19(4):515-530.
- [28] NAMOUR A, GEERTS S, ZEINOUN T, et al. Safety Irradiation Parameters of Nd:YAP Laser Beam for Endodontic Treatments: An In Vitro Study. *Biomed Res Int.* 2016;2016:4741516.
- [29] NAMOUR A, NAMMOUR S, PEREMANS A, et al. Treatment of dentinal hypersensitivity by means of Nd: YAP Laser: a preliminary in vitro study. *Sci World J.* 2014;2014:323604.
- [30] TABATABAEI MH, CHINIFORUSH N, HASHEMI G, et al. Efficacy Comparison of Nd:YAG laser, diode laser and dentine bonding agent in dentine hypersensitivity reduction: a clinical trial. *Laser Ther.* 2018;27(4):265-270.
- [31] AFKHAMI F, AKBARI S, CHINIFORUSH N. Enterococcus faecalis Elimination in Root Canals Using Silver Nanoparticles, Photodynamic Therapy, Diode Laser, or Laser-activated Nanoparticles: An In Vitro Study. *J Endod.* 2017;43(2):279-282.
- [32] BLUM JY, MICHAILESCO P, ABADIE MJ. An evaluation of the bactericidal effect of the Nd:YAP laser. *J Endod.* 1997;23(9):583-585.
- [33] GRZECH-LEŚNIAK K, NOWICKA J, PAJĄCZKOWSKA M, et al. Effects of Nd:YAG laser irradiation on the growth of Candida albicans and Streptococcus mutans: in vitro study. *Lasers Med Sci.* 2019;34(1):129-137.
- [34] MASUDA Y, SAKAGAMI H, HORIIKE M, et al. Photodynamic Therapy with Pyoktanin Blue and Diode Laser for Elimination of Enterococcus faecalis. *In Vivo.* 2018;32(4):707-712.
- [35] LÓPEZ-JIMÉNEZ L, ARNABAT-DOMÍNGUEZ J, VIÑAS M, et al. Atomic force microscopy visualization of injuries in Enterococcus faecalis surface caused by Er,Cr:YSGG and diode lasers. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2015;20(1):e45-e51.
- [36] HUANG YJ, CHEN YF, CHEN WD, et al. Comparative study of intracavity KTP-based Raman generation between Nd:YAP and Nd:YAG lasers operating on the (4)F(3/2) → (4)I(13/2) transition. *Opt Express.* 2015; 23(8):10435-10443.
- [37] GRZECH-LEŚNIAK K, SCULEAN A, GAŠPIRC B. Laser reduction of specific microorganisms in the periodontal pocket using Er:YAG and Nd:YAG lasers: a randomized controlled clinical study. *Lasers Med Sci.* 2018;33(7):1461-1470.
- [38] TABATABAEI MH, CHINIFORUSH N, HASHEMI G, et al. Efficacy Comparison of Nd:YAG laser, diode laser and dentine bonding agent in dentine hypersensitivity reduction: a clinical trial. *Laser Ther.* 2018;27(4):265-270.
- [39] SIQUEIRA JF JR, RÔÇAS IN, FAVIERI A, et al. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod.* 2000;26(6):331-334.
- [40] CAFER T, MAHIR G, MURAT K. Effect of CO2, Nd:YAG, and ArF Excimer Lasers on Dentin Morphology and Pulp Chamber Temperature: An In Vitro Study. *J Endod.* 2000;26(11):644-648.

(责任编辑: GD, ZN, SX)