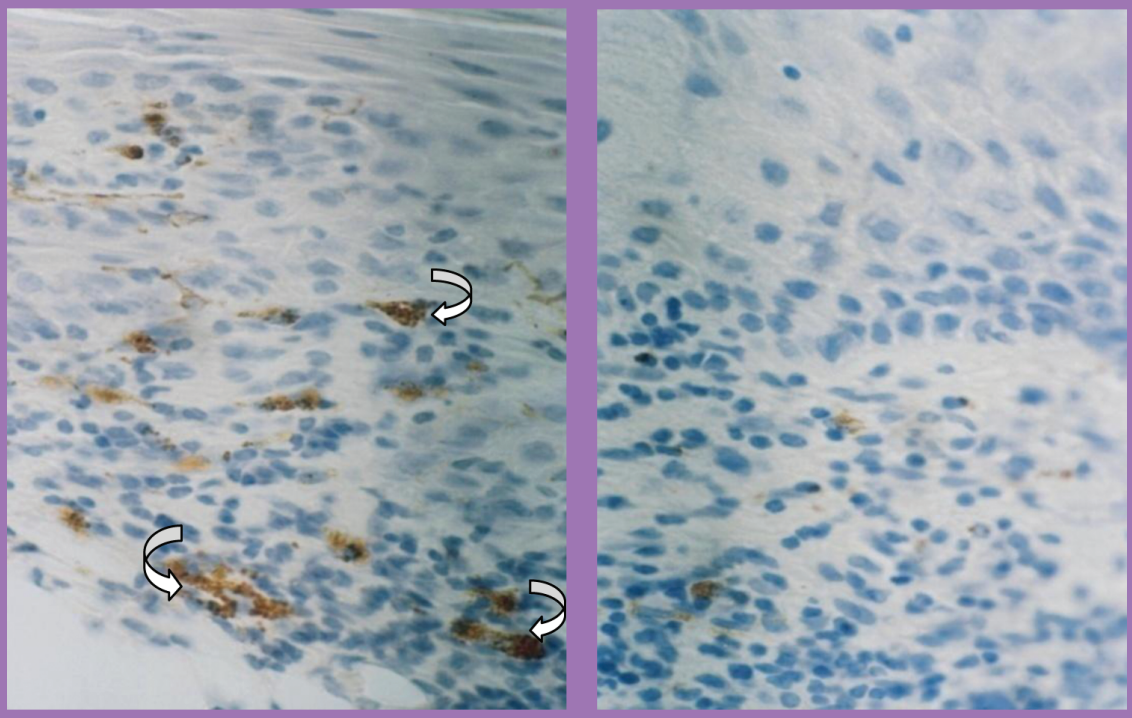
เฉลิมฉลองทันตแพทย์ไทยครบรอบ 75 ปี
Celebrating 75 Years of Thai Dentistry

วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

ปีที่ 65 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2558 / Volume 65 Number 1 January - March 2015



- **Milestone of Oral Medicine in Thailand: Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University Perspective**
- **Self-Adhesive Resin Cements**
- **Non-Surgical and Non-Extraction Treatment of a Severe Skeletal Class III Deep Bite Patient**
- ***In Vitro* Efficacy of Disinfectants Used in Dental Clinic**
- **Effects of Acidic and Green Tea Soft Drinks on the Shear Bond Strength of Metal Orthodontic Brackets**
- **Stainability of Esthetic Restorative Materials after Cyclic Immersion in Various Beverages**

ISSN 2408 - 1434

http://www.jdat.org

วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

ทันตแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย
ในพระบรมราชูปถัมภ์
THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

Advisory Board

Dr. Boonsom Subhabhundu
Asst. Prof. Thavalyarat Holasut
Asst. Prof. Varaporn Buatongsri
Assoc. Prof. Wacharaporn Tasachan
Clinical. Prof. Nitipun Jeeraphaet
Dr. Werawat Satayanurug
Asst. Prof. Dr. Suchit Poolthong
Dr. Prinya Pathomkulmai
Assoc. Prof. Dr. Waranun Buajeeb

Board of Directors 2013 - 2015

President	Lt. Gen. Phisal Thepsithar
President Elect	Dr. Adirek S. Wongsa
1st Vice-President	Asst. Prof. Dr. Sirivimol Srisawasdi
2nd Vice-President	Assoc. Prof. Porjai Ruangsri
Secretary-General	Dr. Chavalit Karnjanaopaswong
Treasurer	Assoc. Prof. Poranee Berananda
Editor	Assoc. Prof. Dr. Teerasak Damrongrungruang
Executive Committee	Dr. Chanathip Amatyakul
	Assoc. Prof. Surasith Kiatpongsan
	Asst. Prof. Anonknart Bhakdinaronk
	Dr. Charmary Reanamporn
	Clinical. Prof. Pusadee Yotnuengnit
	Lt. Gen. Nawarut Soonthornwit
	Prof. Dr. Prasit Pavasant
	Dr. Wantana Puthipad
	Assoc. Prof. Dr. Siriruk Nakornchai
	Asst. Prof. Ekachai Chunhacheevachaloke
	Dr. Kanit Dhanesuan
	Assoc. Prof. Dr. Patita Bhuridej

OFFICE 71 Ladprao 95 Wangtonglang Bangkok 10310, Thailand. Tel. 02-5394748, Fax 02-5141100

วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

Advisory Board

Lt. Gen. Phisal Thepsithar
Prof. Dr. Mongkol Dejnakarintra
Prof. Chainut Chongruk
Special Prof. Sitthi S Srisopark
Assoc. Prof. Porjai Ruangsri
Assist. Prof. Phanomporn Vanichanon
Assoc. Prof. Dr. Patita Bhuridej

Editor

Teerasak Damrongrungruang

Associate Editors

Prasit Pavasant
Siriruk Nakornchai
Nirada Dhanesuan

Editorial Board

Ponlatham Chaiyarit, Khon Kaen University,Thailand
Brian Foster, NIAMS/NIH, USA.
Suttichai Krisanaprakornkit, Chiang Mai University,Thailand
Boonlert Kukiattrakoon, Prince of Songkla University, Thailand
Thongnard Kumchai, Chiang Mai University, Thailand
Aroonwan Lam-ubol, Srinakharinwirot University, Thailand
Oranat Matungkasombut, Chulalongkorn University, Thailand
Anwar Merchant, University of South Carolina, USA.
Somsak Mitrirattanaku, Mahidol University,Thailand
Ahmed Abbas Mohamed, University of Warwick, UK.
Hiroshi Ogawa, Niigata University, JAPAN
Waranuch Pitiphat, Khon Kaen University,Thailand
Thantrira Porntaveetus, Chulalongkorn University,Thailand
Lertrit Sarinnaphakorn, Thammasat University,Thailand
Vanthana Sattabanasu, Mahidol University, Thailand
Tewarit Somkotra, Chulalongkorn University, Thailand
Kitti Torrungruang, Chulalongkorn University, Thailand
Antheunis Versluis, The University of Tennessee Health Science Center, USA.
Nita Viwattanatipa, Mahidol University, Thailand

Editorial Staff

Wattana Chancharuswattana
Pitawat Yodying

Manager

Poranee Berananda

Journal published trimonthly. Foreign subscription rate US$ 200 including postage.
Publisher and artwork: Q - Print Co., Ltd.
Please send manuscripts to Assoc. Prof. Dr. Teerasak Damrongrungruang
Mailing address: 71 Ladprao 95 Wangtonglang Bangkok 10310, Thailand E-mail: jdat.editor@gmail.com

วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์
JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

จดหมายจากสาราณียกร

สวัสดีท่านสมาชิกวิทยาสารทันตแพทยศาสตร์ทุกท่าน ขอสวัสดีปีใหม่พ.ศ. 2558 ปีนี้เป็นปีพิเศษคือ เป็นปีที่เฉลิมฉลอง 75 ปีทันตแพทย์ไทย ซึ่งถือเป็นปีที่ก้าวสู่ปีที่ 65 ของวิทยาสารฯ และยังถือเป็นปีแห่งการรวมเขตเศรษฐกิจอาเซียนหรือ ASEAN Economics Community เป็นหนึ่งเดียว ดังนั้น กองบรรณาธิการขอความร่วมมือให้ท่านสมาชิกฯ ส่งผลงานเป็นภาษาอังกฤษมาตีพิมพ์ เพื่อให้มีความเป็นสากล ทันยุค AEC และเพื่อให้งานของท่านมีผู้เข้าถึงได้มากยิ่งขึ้น

สำหรับวารสารเล่มที่ 1 ประจำปี พ.ศ. 2558 ประกอบด้วยบทความทั้งสิ้นจำนวน 6 บทความ ซึ่งเผยแพร่ในรูปแบบวารสารรูปเล่ม และรูปแบบวารสารอิเล็กทรอนิกส์ โดยเป็นบทความปริทัศน์รับเชิญ 1 บทความ บทความปริทัศน์ 1 บทความ รายงานผู้ป่วย 1 บทความ และบทวิทยาการ 3 บทความ ตามลำดับดังนี้ 1) Milestone of Oral Medicine in Thailand: Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University Perspective 2) เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ 3) Non-Surgical and Non-Extraction Treatment of a Severe Skeletal Class III Deep Bite Patient. 4) ประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีใช้ในคลินิกทันตกรรมในห้องปฏิบัติการ 5) Effects of Acidic and Green Tea Soft Drinks on the Shear Bond Strength of Metal Orthodontic Brackets 6) Stainability of Esthetic Restorative Materials after Cyclic Immersion in Various Beverages

ท้ายที่สุดนี้ ทางกองบรรณาธิการขอให้ทุกท่านสนับสนุนวิทยาสารทันตแพทยศาสตร์ต่อ ๆ ไป และข้อเสนอแนะประการใดก็ตามจากท่านสมาชิก ซึ่งจะทำให้วิทยาสารฯ มีคุณภาพมากขึ้น ขอได้โปรดส่งข้อเสนอแนะหรือข้อคิดเห็นมายังกองบรรณาธิการได้ตลอดเวลา

รศ. ทพ. ดร. ธีระศักดิ์ ดำรงรุ่งเรือง
สาราณียกร

วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 65 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม พ.ศ. 2558

บทความปริทัศน์

Milestone of Oral Medicine in Thailand: Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University Perspective
Kobkan Thongprasom

เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์
อวิรุทธ์ คล้ายศิริ
นันทวรรณ กระจ่างตา

รายงานผู้ป่วย

Non-Surgical and Non-Extraction Treatment of a Severe Skeletal Class III Deep Bite Patient
Supachai Lertnimulchai
Keith Godfrey

บทวิทยาการ

ประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีใช้ในคลินิกทันตกรรมในห้องปฏิบัติการ
กัลยารัตน์ ปทุมราช
ชวิรกาญ แม้นพิบูลย์
ชุติกาญจน์ จึงประสิทธิ์พร
วันเพ็ญ ซินเฮง
รัชนี อัมพรอร่ามเวทย์

Effects of Acidic and Green Tea Soft Drinks on the Shear Bond Strength of Metal Orthodontic Brackets
Supassara Sirabanchongkran
Siriwat Wattanapanich

Stainability of Esthetic Restorative Materials after Cyclic Immersion in Various Beverages
Saijai Tanthanuch
Boonlert Kukiattrakoon

Contents

Volume 65 Number 1 January - March 2015

Review Article

1 **Milestone of Oral Medicine in Thailand: Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University Perspective**
Kobkan Thongprasom

11 **Self-Adhesive Resin Cements**
Awiruth Klaisiri
Nantawan Krajangta

Case Report

21 **Non-Surgical and Non-Extraction Treatment of a Severe Skeletal Class III Deep Bite Patient**
Supachai Lertnimulchai
Keith Godfrey

Original Article

34 ***In Vitro* Efficacy of Disinfectants Used in Dental Clinic**
Kalyarat Patumraj
Chavirakarn Manpibool
Chutikan Juengprasitporn
Wanpen Sinheng
Ruchanee Ampornaramveth

43 **Effects of Acidic and Green Tea Soft Drinks on the Shear Bond Strength of Metal Orthodontic Brackets**
Supassara Sirabanchongkran
Siriwat Wattanapanich

52 **Stainability of Esthetic Restorative Materials after Cyclic Immersion in Various Beverages**
Saijai Tanthanuch
Boonlert Kukiattrakoon

Front cover images:
Immunopathogenesis of Oral Lichen Planus (OLP) in Thai patients.
A) The expression of tumor necrosis factor- α (TNF-α) in OLP.
B) Inhibition of TNF-α expression by 0.1 % fluocinolone acetonide orabase
(See *Thongprasom* Page 5 for details)

Instruction for Authors

The Journal of the Dental Association of Thailand welcome submissions from the field of Dentistry and related science. We published 4 issues per year in January, April, July and October.

Categories of the Articles

1. **Original Articles:** a research report which has never been published elsewhere and represent new and significant contributions to the field of Dentistry.
2. **Review Articles:** an article with technical knowledge collected from journals or textbooks and is profoundly analyzed and criticized.
3. **Case Reports:** a short report of an update case or case series related to dental field which has been carefully analyzed and criticized with scientific observation.
4. **Letter to the Editor:** a brief question or comment that is useful for readers

Manuscript Submission

The Journal of the Dental Association of Thailand only accepts online submission. The manuscript must be submitted via http://www.jdat.org. Registration by corresponding author is required for submission. We accept articles written in both English and Thai. However for Thai article, English abstract is required whereas for English article, there is no need for Thai abstract submission. The main manuscript should be submitted as .doc or .docx. All figures and tables should be submitted as separated files (1 file for each figure or table). For figures and diagrams, the acceptable file formats are .tif, .bmp and .jpeg with resolution at least 300 dpi. with 2 MB.

Contact Address

Editorial Staff of the Journal of the Dental Association of Thailand
The Dental Association of Thailand
71 Ladprao 95
Wangtonglang Bangkok 10310
Email: jdat.editor@gmail.com
Telephone: 662-539-4748 Fax: 662-514-1100

Manuscript Preparation

1. For English article, use font of Times New Roman size 12 in a standard A4 paper (21.2 x 29.7 cm) with 2.5 cm margin on all four sides. The manuscript should be typewritten with double-spacing.
2. For Thai article, use font of Cordia New Style size 16 in a standard A4 paper (21.2 x 29.7 cm) with 2.5 cm margin on all four sides. The manuscript should be typewritten with 1.5 line spacing. Thai article must also provide English abstract. All references must be in English. For the article written in Thai, please visit the Royal Institute of Thailand (http://www.royin.go.th) for the assigned Thai medical and technical terms. The original English words must be put in the parenthesis mentioned at the first time.
3. Numbers of page must be on the top right corner. The length of article should not exceed 10 pages of the journal (approximate 24-28 pages A4, not includ figures and tables)
4. Measurement units such as length, height, weight, capacity etc. should be in metric units. Temperature should be in degree Celsius. Pressure units should be in mmHg. The hematologic measurement and clinical chemistry should follow International System Units or SI.
5. Standard abbreviation must be used for abbreviation and symbols. The abbreviation should not be used in the title and abstract. Full words of the abbreviation should be referred at the end of the first abbreviation in the content except the standard measurement units.
6. Position of the teeth may use full proper name such as maxillary right canine or symbols according to FDI two-digit notation and write full name in the parenthesis after the first mention such as tooth 31 (mandibular left central incisor).
7. Every illustration including tables must be referred in all illustrations The contents and alphabets in the illustrations and tables must be in English. Numbers are used in Arabic form and limited as necessary. During the submission process, all photos and tables must be submitted in the separate files. Once the manuscript is accepted, an author may be requested to resubmit the high quality photos.

Preparation of the Research Articles

1. **Title Page**

   The first page of the article should contain the following information
   - Category of the manuscript
   - Article title
   - Authors' names and affiliated institutions
   - Author's details (name, mailing address, E-mail, telephone and FAX number)

2. Abstract

Only English abstract is required for English article. Both English and Thai abstracts are required for Thai article and put in separate pages. The abstract should contain title, objectives, methods, results and conclusion continuously without heading on each section. Do not refer any documents, illustrations or tables in the abstract. The teeth must be written by its proper name not by symbol. Do not use English words in Thai abstract but translate or transliterate it into Thai words and do not put the original words in the parenthesis. English abstract must not exceed 300 words. Key words (3-5 words) are written at the end of the abstract in alphabetical order with semicolon (;) in-between.

3. Text

The text of the original articles should be organized in sections as follows

- **Introduction:** indicates reasons or importances of the research, objectives, scope of the study. Introduction should review new documents in order to show the correlation of the contents in the article and original knowledge. It must also clearly indicate the hypothesis.
- **Materials and Methods:** indicate details of materials and methods used in the study for readers to be able to repeat such as chemical product names, types of experimental animals, details of patients including sources, sex, age etc. It must also indicate name, type, specification, and other information of materials for each method. For a research report performed in human subjects, authors should indicate that the study was performed according to the ethical Principles for Medical Research and Experiment involving human subjects such as Declaration of Helsinki 2000 or has been approved by the ethic committees of each institute.
- **Results:** Results are presentation of the discovery of experiments or researches. It should be categorized and related to the objectives of the articles. The results can be presented in various forms such as words, tables, graphs or illustrations etc. Avoid repeating the results both in tables and in paragraph. Emphasize only important issues.
- **Discussion:** The topics to be discussed include the objectives of the study, advantages and disadvan tages of materials and methods. However, the important points to be especially considered are the experimental results compared directly with the concerned experimental study. It should indicate the new discovery and/or important issues including the conclusion from the study. New suggestion, problems and threats from the experiments should also be informed in the discussion and indicate the ways to make good use of the results.
- **Conclusion:** indicates the brief results and the conclusions of the analysis.
- **Acknowledgement:** indicates the institutes or persons helping the authors, especially on capital sources of researches and numbers of research funds (if any).
- **References** include every concerned document that the authors referred in the articles. Names of the journals must be abbreviated according to the journal name lists in "Index Medicus" published annually or from the website http://www.nlm.nih.gov

Writing the References

The references of both Thai and English articles must be written only in English. Reference system must be Vancouver system, using Arabic numbers, making order according to the texts chronologically. Titles of the Journals must be in Bold and Italics.

Sample of references from articles in Journals

Phantumvanit P, Feagin FF, Koulourides T. Strong and weak acids sampling for fluoride of enamel remineralized sodium fluoride solutions. ***Caries Res*** 1977;11:56-61.

- **Institutional authors**
  Council on Dental materials and Devices. New AmericanDental Association Specification No.27 for direct filling resins. ***J Am Dent Assoc*** 1977;94:1191-4.
- **No author**
  Cancer in south Africa [editorial]. ***S Afr Med J*** 1994:84:15.

Sample of references from books and other monographs

- **Authors being writers**
  Neville BW, Damn DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and maxillofacial pathology. Philadelphia: WB Saunder; 1995. p. 17-20
- **Authors being both writer and editor**
  Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for the elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.
- **Books with authors for each separate chapter and also have editor**
  Sanders BJ, Henderson HZ, Avery DR. Pit and fissure sealants; In: McDonald RE, Avery DR, editors. Dentistry for the child and adolescent. 7th ed. St Louis: Mosby; 2000. p. 373-83.

- **Institutional authors**

  International Organization for Standardization. ISO/TR 11405 Dental materials-Guidance on testing of adhesion to tooth structure. Geneva: ISO; 1994.

Samples of references from academic conferences

- **Conference proceedings**

  Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

- **Conference paper**

  Hotz PR. Dental plaque control and caries. In: Lang PN, Attstrom R, Loe H, editors. Proceedings of the European Work shop on Mechanical Plaque Control; 1998 May 9-12; Berne, Switzerland. Chicago: Quintessence Publishing; 1998. p. 35-49.

- **Documents from scientific or technical reports**

  Fluoride and human health. WHO Monograph; 1970. Series no.59.

Samples of reference from thesis

Muandmingsuk A. The adhesion of a composite resin to etched enamel of young and old teeth [dissertation]. Texas: The University of Texas, Dental Branch at Houston; 1974.

Samples of reference from articles in press

Swasdison S, Apinhasmit W, Siri-upatham C, Tungpisityoitn M, Pateepasen R, Suppipat N, *et al.* Chemical sterilization for barrier membranes is toxic to human gingival fibroblasts. ***J Dent Assoc Thai.*** In press 2000. *In this case, accepted letter must be attached.

Samples of reference from articles in electronic format

- **Online-only Article (With doi (digital identification object number)**

  Rasperini G, Acunzo R, Limiroli E. Decision making in gingival recession treatment: Scientific evidence and clinical experience. ***Clin Adv Periodontics*** 2011;1: 41-52. doi:10.1902/cap.2011.100002.

- **Online only article (without doi)**

  Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. ***Am J Nurs*** 2002;102(6) [cited 2002 Aug 12] Available from: http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle.

- **Ahead of printing**

  McGuire MK, Scheyer ET, Nevins M, *et al.* Living cellular construct for increasing the width of keratinized gingival. Results from a randomized, withinpatient, controlled trial [published online ahead of print March 29, 2011]. ***J Periodontol*** doi:10.1902/jop.2011.100671.

- **Homepage/ website**

  Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: http://www.cancer-pain.org/.

- **Monograph in electronic format**

  CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-Rom]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: SMEA; 1995.

Samples of references from patents/petty patents

Patent

Pagedas AC, inventor; Ancel Surgical R&D Inc., assignee. Flexible endoscopic grasping and cutting device and positioning tool assembly. United States patent US 20020103498. 2002 Aug 1.

Petty patent

Priprem A, inventor, Khon Kaen University. Sunscreen gel and its manufacturing process. Thailand petty patent TH1003001008. 2010 Sep 20.

Preparation of the Review articles and Case reports

Review articles and case reports should follow the same format with separate pages for Abstract, Introduction, Discussion, Conclusion, Acknowledgement and References.

The Editorial and Peer Review Process

The submitted manuscript will be reviewed by at least 2 qualified experts in the respective fields. In general, this process takes around 4 - 8 weeks before the author be notified whether the submitted article is accepted for publication, rejected, or subject to revision before acceptance.

The author should realize the importance of correct format manuscript, which would affect the duration of the review process. The Editorial office will not accept a submission if the author has not supplied all parts of the manuscript as outlined in this document.

Copyright

Upon acceptance, copyright of the manuscript must be transferred to the Dental Association of Thailand.

PDF files of the articles are available at http://www.jdat.org.

Review Article

Milestone of Oral Medicine in Thailand: Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University Perspective

Kobkan Thongprasom[1]

[1]Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry Chulalongkorn University, Bangkok Thailand

Correspondence to:

Kobkan Thongprasom, Department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry Chulalongkorn University, 34, Henri-Dunant Rd, Patumwan, Bangkok 10330 Thailand Tel: 02-2188942 Fax: 02-2188941 E-mail: kobkan.t@chula.ac.th

Abstract

Dentist is the first person who has the opportunity to detect abnormal changes in the oral cavity. As oral diseases are frequently associated with systemic diseases, this is important for the patients because early detection and correct diagnosis can save the patients' life. Many oral diseases can cause burning sensation, severe pain and difficulty in speaking, swallowing, and/or eating. These symptoms can tremendously affect the patients' general health as well as their quality-of-life. With the emerging new diseases/infections and the increase in autoimmune disease related oral lesions, achieving accurate diagnosis and effective treatment has been a challenge. Hence, knowledge in oral diagnosis and oral medicine are very important for the dental practitioners. Topical steroid such as fluocinolone acetonide was established in the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University since 1985. Treatment and management of Oral Lichen Planus (OLP), Oral Lichenoid Drug Reaction (OLDR), Recurrent Oral Ulceration (ROU), Glossitis, Pemphigus, Mucous Membrane Pemphigoid (MMP) and research in oral medicine have been discussed. This review presented the interesting oral diseases in Thai patients and milestone of oral medicine in Thailand.

Key words: Fluocinolone acetonide; Lichen planus; Lichenoid; Mucous membrane pemphigoid; Oral; Pemphigus

Received Date: Oct 24, 2014, Accepted Date: Jan 12, 2015

Introduction

Although oral medicine was not an official course at that time of the establishment of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University in 1940, there were various related courses in the dental curriculum. For examples, General Medicine provided the dental students the knowledge of signs and symptoms in the body that could be related to oral health. Oral diagnosis was documented as an important course in dental curriculum because the accurate diagnosis led to effective treatment of the diseases. Therefore, dental students were required to take the oral diagnosis course. Apart from participating in the out-patient department, oral diagnosis was also a part of the Operative Dentistry department, which comprised the Periodontology, Oral Medicine and Oral Diagnosis led by Professor Issara Yuktanan since 1963. In 1974, Periodontology department was established as individual entity and subsequently was Oral Medicine department. Oral examination and oral diagnosis have been in the curriculum of Oral Medicine course ever since.

Various patients were enrolled to the Oral Diagnosis and Oral Medicine clinic, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University for oral examination, diagnosis and treatment of dental problem or oral mucosal diseases. In Thailand 0.1 % triamcinolone acetonide in orabase was the only commercially available topical steroid, but it was not effective in the treatment of severe oral ulceration. In 1985, Assistant Professor Punni Soomsawasdi, Head of Oral Medicine Department, introduced a new high potency topical steroid named 0.1 % fluocinolone acetonide to the Pharmacology Department, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University. Assistant Professor Somsri Rassamithat, Head of Pharmacology Department and Associate Professor Wanee Taweesap prepared 0.1 % fluocinolone acetonide in the solution (FAS) form first and then in the orabase form (FAO) later.

Research on topical steroids – Fluocinolone Acetonide

Since 1988, the research on topical steroid in the topic of "0.1 % fluocinolone acetonide in orabase in the treatment of oral lichen planus" was supported by Ratchadapiseksoompooch Grant, Chulalongkorn University. Oral Lichen Planus (OLP) is the most common oral lesion in the Oral Medicine clinic and it is a chronic inflammatory disease of unknown etiology characterized by white striae with or without erythematous or erosive/ulcerative area. Patients usually come to Oral Medicine clinic with the chief complaint of burning sensation or pain when eating hot and spicy food. Most of the patients with OLP are middle-aged women.[1] In recalcitrant OLP, control of oral hygiene with topical treatment the OLP lesion with 0.1 % FAO can enhance healing of the lesions without serious side-effects (Fig. 1). Only *pseudomembranous candidiasis* during treatment with FAO may occur, but could be easily resolved with antifungals. There was no adrenal suppression found in all cases after treatment with FAO for 6 months. This study confirmed that this drug was safe for long-term use in chronic lesions such as OLP. Moreover, FAS has been found to be effective, low cost and safe in the treatment of OLP in the long-term follow-up (Fig. 2). The patients from various parts of Thailand, particularly the poor patients, benefitted greatly from these drugs. This resulted in reduced treatment cost and travel expenses of the patients. This research was also published in the Journal Oral Pathology and Medicine in 1992 by the title of "Relative efficacy of fluocinolone acetonide compared with triamcinolone acetonide in treatment of oral lichen planus".[2] From this research, Thongprasom *et al.* Clinical Scoring Criteria has been widely used to assess the treatment outcomes, clinical response and the severity OLP lesion in the researches of many International Medical and Dental Journals as follows:[3-9]

Score 1 = mild white striae
Score 2 = white striae with atrophic area < 1 cm^2
Score 3 = white striae with atrophic area > 1 cm^2

Score 4 = white striae with erosive area < 1 cm^2
Score 5 = white striae with erosive area > 1 cm^2

In 1992, the technology of the preparation of 0.1 % FAO was transferred to the Government Pharmaceutical Organization of Thailand. However, as it was not cost effective for industrial production at that time, this drug had only been prepared in the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University. Nowadays, this drug is widely used by dental practitioners in many universities, hospitals and private clinics in Thailand. Recently, fluocinolone acetonide has been accepted into the National List of Essential Medicines in Thailand. Since fluocinolone acetonide has been widely used and has been found to be effective with no serious side-effect in long-term follow-up,[10] more topical steroids have been prepared in the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University such as 0.05 % clobetasol propionate, 0.1 % fluocinolone + 1 % clotrimazole gel, 0.05 % dexamethasone mouthwash, 0.01 % triamcinolone acetonide mouthwash and etc. to treat the widespread lesions of oral autoimmune diseases such as pemphigus, mucous membrane pemphigoid, recurrent aphthous ulceration. Not only Thai patients, but also foreign patients with oral lesions referred from various countries, have been treated with these topical steroids.

A B

Figure 1 *Poor oral hygiene in a 60-year-old male with OLP, the lesions persisted more than 10 years and no response to any medications. Heavy calculus deposition, furcation involvement on tooth 26, generalized abrasion and deep caries under gingival margin on tooth 37 were seen (mirror image). The left marginal and attached gingiva showed erythematous and ulcerative areas with white striae.*

A. Atrophic/ulcerative lichen planus in a patient with poor oral hygiene before treatment

B. After control of oral hygiene and treatment with 0.1 % FAO, gingiva returned to normal after 4-year follow-up.

A B

Figure 2 *White striae with erythematous and ulcerative areas on the left buccal mucosa in a 49-year-old female*

A. Erythematous and ulcerative areas of OLP on the left buccal mucosa before treatment

B. The OLP lesion showed remission after treatment with 0.1 % FAS in one month. This is after 8-year follow-up.

Recurrent aphthous ulceration, stomatitis and glossitis

Apart from OLP, recurrent aphthous ulceration, glossitis or stomatitis are also commonly found in Thai patients. Recurrent aphthous ulceration defined as a common condition which is characterized by multiple recurrent small, round or ovoid ulcers with circumscribed margins, erythematous haloes, and yellow or grey floors typically present first in childhood or adolescence. The etiology of this disease is not entirely clear. Stomatitis defined as generalized inflammation of the oral mucosa, whereas glossitis defined as inflammation of the tongue. These disorders affect the quality-of-life of the patients because of chronic pain and burning sensation to hot and spicy food. In 1998, the Government Budget Fund supported us to conduct the applied research in the topic of "Hematological abnormalities in oral lichen planus, recurrent aphthous ulceration and stomatitis or glossitis". Our studies were the first to explain the abnormalities of folate and vitamin B_{12} levels in Thai patients with those diseases.[11,12] From these results, we found that folate levels should be investigated in patients with symptomatic oral lesions, especially those with risk factors of age, poor nutrition or systemic diseases. Correction of folate and vitamin B_{12} deficiencies have been found to be useful in the treatment of such lesions (Fig. 3). The recalcitrant oral lesions/ulceration with the underlying diseases showed significant improvement. In addition, patients who had suffered from more than 10 years of painful recurrent oral ulceration or glossitis displayed complete remission of the oral lesions and symptoms. There were no longer food restriction for these patients and their health and quality-of-life had improved tremendously.

A B

Figure 3 *Recurrent oral ulceration and glossitis on fiery red tongue from vitamin B_{12} deficiency more than 10 years in a 52-year-old female*

A. Multiple round and oval oral shape ulceration size 2 - 4 mm on the right lateral surface of the tongue, before treatment

B. After treatment with 1,000 µg hydroxocobalamin injection for 3 months, the tongue returned to normal.

Potentially malignant disorders

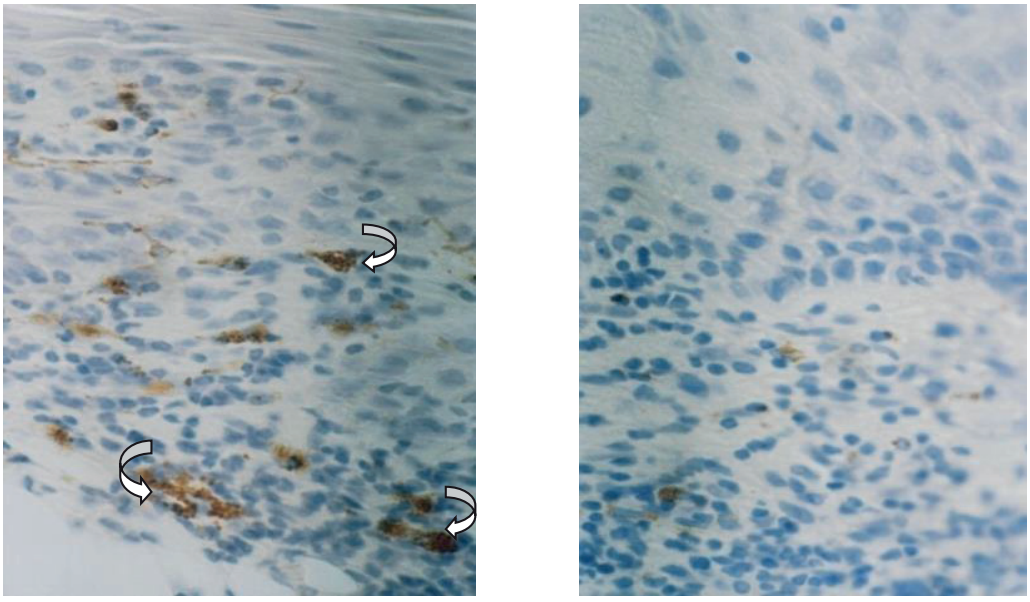
OLP is one of the potentially malignant disorders that carry an increased risk of Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC). In 1999, the research entitled "Telomerase activity in oral lichen planus" supported by Government Budget Fund was conducted. The novel research of this kind has never been reported before in Thailand. New data of OLP in Thai patients suggested that telomerase activity might not be particularly associated with the premalignant phenotype in OLP.[13] Furthermore, multicenter study of OLP in Thai patients from the North, Northeastern and central parts showed low malignant transformation.[14]

Oral lichenoid lesions

Middle-aged or elderly patients with systemic diseases usually take multiple medications, some of which can induce lesions such as oral ulceration, Oral Lichenoid Drug Reaction (OLDR), gingival overgrowth, xerostomia, hyperpigmentation etc. Non Steroids Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) are commonly used in the elderly patients with arthritis. "Adverse oral reactions associated with the COX-2 inhibitor-Rofecoxib" was the first case report that showed severe oral lesions as the side-effect of this drug. The patient had developed severe oral ulceration that was not responsive to treatment for more than 1 year. Cessation of the suspected drug and replacement with alternative drugs resulted in complete remission of the lesion. Collaboration and good communication between oral medicine specialist and physician were important in the management of drug induced oral lesions. Interestingly, the side-effect presented in oral cavity in this case had been reported before the Federal of Drug Administration (FDA) withdrew Rofecoxib from commercial use because of its cardiac toxicity.[15] Dental materials such as amalgam can also induce Oral Lichenoid Contact Lesion (OLCL), which is similar to OLP clinically and histopathologically. Removal of amalgam filling followed by resin composite filling replacement usually results in lesion remission.

Immunopathogenesis of OLP

"Expression of TNF–α in oral lichen planus treated with 0.1 % fluocinolone acetonide" was one of the researches conducting in Thailand and showed that cytokine (TNF–α) was involved in the immunopathogenesis in Thai patients with OLP (Fig. 4). Moreover, it was the first study that demonstrated the effectiveness of topical steroid - 0.1 % FAO in inhibiting TNF–α in the OLP lesion.[16] This finding may lead to a new target therapy of chronic oral lesion of OLP.



A B

Figure 4 *A study of immunopathogenesis of OLP in Thai patients. The immunohistochemical staining for TNF-α in tissue sections of OLP. Proinflammatory cytokine, TNF-α has been implicated in the pathogenesis of OLP.*

A. Tumor necrosis factor-α (TNF-α) expression (arrows) in OLP lesion

B. After treatment OLP lesion with 0.1 % fluocinolone acetonide orabase (FAO) for 1 month, 0.1 % FAO can inhibit TNF-α expression.

International collaboration in Oral Medicine and Oral Diseases Group of Thailand (ODGT)

In 2006, Asian Oral Lichen Planus Group, led by the National Medical Research of Singapore in collaboration with the research groups from Thailand, India and Korea, conducted a research entitled "A randomized controlled trial to compare steroid with cyclosporine for the topical treatment of Oral Lichen Planus". Unfortunately, the result showed that cyclosporine was not as effective in the treatment of OLP as the topical steroid, 0.1 % triamcinolone acetonide in orabase. Furthermore, side-effects such as burning sensation, swelling lips, itching had been observed in some patients treated with cyclosporine. As a result, cyclosporine could not be launched in worldwide commercial market.[17,18]

Oral lesions of autoimmune diseases such as Mucous Membrane Pemphigoid (MMP) may precede the development of lesions in other mucous membranes of the body such as oropharynx, nasal mucosa, eyes etc, and the progression of the disease may cause blindness in some patients. One interesting case was a patient who presented with a palatal ulceration with the diagnosis of MMP and was initially treated by an oral medicine specialist. The lesion subsequently progressed to involve the oropharynx and eye, at which point the patient was under the care of the physicians. Unfortunately, the physicians treated other non-oral lesions in this patient symptomatically without knowing the original oral diagnosis. This patient developed airway problem during treatment, and finally developed blindness. This case was brought to the court of justice for the inappropriate treatment of the patient. Oral medicine specialists from various parts of Thailand tried to find document to support that the blindness was definitely by the progression of MMP itself not by the malpractice of oral medicine specialist or physicians. This case showed the significant association between oral lesions and patient's life. Many medical professionals were also affected from this case. In 2004, the Oral Diseases Group of Thailand (ODGT) was founded to disseminate the updated knowledge and to emphasize the importance of oral medicine subject to dental and general practitioners. Moreover, ODGT has been accepted as one of the world group of oral medicine associations during World Workshop in Oral Medicine IV in San Juan, Puerto Rico since 2006.

Research unit in oral diseases has been set up at the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University in 2006. The objectives of research unit were to elucidate the pathogenesis of oral diseases, side-effects of drugs and to form collaborative networks both at the national and international levels.[14,17,19] The interesting research was the first comparative study of OLP between Thai and Croatian which was the first study to compare characteristics of OLP between Asian and Caucasian ethnic groups.[19]

In 2008, the Cochrane Oral Health Group updated the Cochrane review "Interventions for treating oral lichen planus". From Meta-analysis of systematic review, more than 850 articles were reviewed and 28 randomized controlled trials were extracted for analysis. This update review analyzed the effectiveness of drugs used in the treatment of symptomatic OLP that would be useful for clinicians in making the decision even before treating this disease. This was the first time that Thai dentists had the opportunity to participate in the international research with the Cochrane collaboration which is an independent, non-profit, non-governmental organization consisting of more than 31,000 volunteers from more than 120 countries. The collaboration was formed to organize medical research information in a systematic way to facilitate the choices that health professionals, patients, policy makers and others face in health interventions according to the principles of evidence-based medicine.[7,8,20]

Pemphigus

Regarding serious oral autoimmune diseases, pemphigus is also commonly found in Thai patients. Gingiva is the most common site of the lesion of pemphigus in Thai patients.[21] Actually, oral lesions usually precede skin lesion and the dentist plays an important role in

the diagnosis and management. Control of oral hygiene and long-term follow-up are very important. Cooperation with the physician and topical steroids have been found to be useful in treatment and management of the lesions.[22] Interestingly, cooperation with the dermatologist, metallurgical engineer, oral pathologist and oral medicine specialists resulted in the new finding that nickel in the metal fused to porcelain crowns can induce pemphigus-like lesion (Fig. 5).[23] A patient presented with oral pemphigus lesion that was not responsive to any treatment for more than 2 years. We removed all old porcelain crowns and bridges to porcelain fused to precious metal and treated the lesions with potent topical steroids- 0.1 % FAS and 0.05 % clobetasol propionate in orabase. Finally, those treatment and management were found to be effective and resulted in complete remission (Fig. 6). Interestingly, rare oral autoimmune diseases with long-term follow-up was presented in a patient with pemphigus, discoid lupus erythematosus and dermatomyositis. This unusual case presented with gingival lesions that might be useful for general dentist to aware of autoimmune diseases which commonly appear on the gingiva at the first site.[22]

A B

Figure 5 *The porcelain fused to metal crowns and bridges on the left permanent maxillary second premolar to the left permanent maxillary second molar (tooth 25 - 27), and the left permanent mandibular second premolar to the left permanent mandibular second molar (tooth 35 - 37), the left permanent mandibular canine to the right permanent mandibular first molar (tooth 33 - 46) persisted in the oral cavity more than 15 years induced pemphigus-like lesion.*
A. Gingival erosion and desquamative epithelium at the mandibular anterior teeth area of crowns and bridges
B. After replacement crowns with precious metal with porcelain and treat with 0.1% FAS, the gingiva showed complete remission. (Acknowledge to Dr. Adirek S. Wongsa for his kind reconstruction of all new PFM)

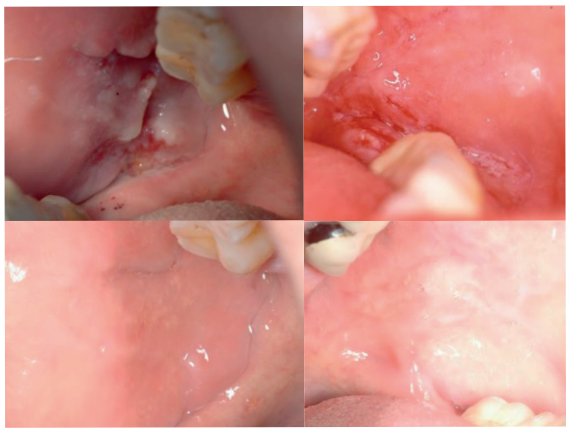


Figure 6 *Deep oral ulceration on the right and the left buccal mucosa in patient in Fig. 6 before treatment (upper) and complete remission 3 years after treatment with 0.1 % FAS and 0.05 % clobetasone propionate in orabase (lower)*

Topical steroids such as FAO, FAS, 0.05 % clobetasone propionate, 0.05 % dexamethasone mouth-wash have been found to be effective and safe in the treatment of OLDR patients with many systemic diseases during 7-year follow-up.[24] Recently, a study of "Oral lichenoid lesions and serum antinuclear antibodies in Thai patients" has been presented. The number of serum-ANA-positive OLP and OLDR patients was significantly higher than the control group. Our first findings in Thai patients would be clarified about the relationship and/or overlapping OLP, OLDR and lupus erythematosus lesions in a near future. [25]

Discussion

Over the past decades, the need for oral health care professionals to understand basic principles of diagnosis and oral medicine has grown exponentially. Increasing number of patients seeking oral health services are taking multiple medications, so untoward effects of drugs to the oral mucosa will be increased. Oral health is an important part of general health, so dentists and dental specialists should be aware of medical status of their patients in order to provide a high level of oral health care.[26] Oral medicine in Thailand has been progressing in diagnosis, treatment and management of oral diseases for the past 25 years. Various patients with oral lesions including autoimmune, fatal, life-threatening, chronic and unusual diseases have been referred to the department of Oral Medicine, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University and other universities in many regions of Thailand for the definite diagnosis and treatment. Cooperation between dentists and physicians has been found to be useful during management of problems related to oral diseases.

Conclusion

It is incumbent upon the oral medicine specialists and general dentists to provide the most accurate diagnosis and effective treatment to the patients as these can at least improve their quality-of-life and at most save their life. Thus, knowledge in oral diagnosis and oral medicine are essential subjects for dentists to provide appropriate oral health care in Thai patients.

Acknowledgement

I would like to express my sincere gratitude to Chulalongkorn University and Research Unit in Oral Diseases, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University for long-term support on all researches. My thanks will go to the staff of General Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Saraburi and Lumphun hospitals for kind cooperation.

All patients, postgraduate students, staffs of Oral Medicine, Oral Pathology, Pharmacology, Oral Surgery, Periodontology, Radiology and Microbiology Departments, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University are acknowledged for their cooperation and support. Oral Diseases Group of Thailand (ODGT) is acknowledged for providing oral medicine knowledge to our community.

Special thanks will go to Assoc. Prof. Kittipong Dhanuthai for his kind editing this review and support.

References

1. Eisen D, Carrozzo M, Bagan Sebastian JV, Thongprasom K. Number V Oral Lichen Planus: Clinical features and management. ***Oral Dis*** 2005;11:338-49.
2. Thongprasom K, Luangjarmekorn L, Sererat T, Taweesap W. Relative efficacy of fluocinolone acetonide compared with triamcinolone acetonide in treatment of oral lichen planus. ***J Oral Pathol Med*** 1992;21:456-8.
3. Kaliakatsou F, Hodgson TA, Lewsey JD, Hegarty AM, Murphy AG, Porter SR. Management of recalcitrant ulcerative oral lichen planus with topical tacrolimus. ***J Am Acad Dermatol*** 2002;46:35-41.
4. Hegarty AM, Hodgson TA, Lewsey JD, Porter SR. Fluticasone propionate spray and betamethasone sodium phosphate mouthrinse: A randomized crossover study for the treatment

of symptomatic oral lichen planus. ***J Am Acad Dermatol*** *2002;47:271-9.*

5. Conrotto D, Carbone M, Carrozzo M, Arduino P, Broccoletti R, Pentenero M, *et al.* Ciclosporin vs. clobetasol in the topical management of atrophic and erosive oral lichen planus: a double-blind, randomized controlled trial. ***Br J Dermatol*** 2006;154:139-45.
6. Gorouhi F, Solhpour A, Beitollahi JM, Afshar S, Davari P, Hashemi P, *et al.* Randomized trial of pimecrolimus cream versus triamcinolone acetonide paste in the treatment of oral lichen planus. ***J Am Acad Dermatol*** 2007;57:806-13.
7. Thongprasom K, Carrozzo M, Furness S, Lodi G. Interventions for treating oral lichen planus. ***Cochrane Database Syst Rev*** 2011;7:CD001168. doi: 10.1002/14651858.CD001168.pub2.
8. Lodi G, Carrozzo M, Furness S, Thongprasom K. Interventions for treating oral lichen planus: a systematic review. ***Br J Dermatol*** 2012;166:938-47.
9. Cheng S, Kirtschig G, Cooper S, Thornhill M, Leonardi-Bee J, Murphy R. Interventions for erosive lichen planus affecting mucosal sites. ***Cochrane Database Syst Rev*** 2012;2:CD008092. doi: 10.1002/14651858.CD008092.pub2.
10. Thongprasom K, Luengvisut P, Wongwatanakij A, Boonjatturus C. Clinical evaluation in treatment of oral lichen planus with topical fluocinolone acetonide: a 2-year follow-up. ***J Oral Pathol Med*** 2003;32:315-22.
11. Thongprasom K, Youngnak P, Aneksuk V. Folate and vitamin B_{12} levels in patients with oral lichen planus, stomatitis or glossitis. ***Southeast Asian J Trop Med Public Health*** 2001;32:643-7.
12. Thongprasom K, Youngnak P, Aneksuk V. Hematologic abnormalities in recurrent oral ulceration. ***Southeast Asian J Trop Med Public Health*** 2002;33:872-7.
13. Thongprasom K, Mutirangura A, Cheerat S. Telomerase activity in oral lichen planus. ***J Oral Pathol Med*** 1998; 27:395-8.
14. Thongprasom K, Youngnak-Piboonratanakit P, Pongsiriwet S, Laothamthut T, Kanjanabud P, Rutchakitprakarn L. A multicenter study of oral lichen planus in Thai patients. ***J Investig Clin Dent*** 2010;1:29-36.
15. Bagán JV, Thongprasom K, Scully C. Adverse oral reactions associated with the COX-2 inhibitor rofecoxib. ***Oral Dis*** 2004;10:401-3.
16. Thongprasom K, Dhanuthai K, Sarideechaigul W, Chaiyarit P, Chaimusig M. Expression of TNF–α in oral lichen planus treated with fluocinolone acetonide 0.1 %. ***J Oral Pathol Med*** 2006;35:161-6.
17. Yoke PC, Tin GB, Kim MJ, Rajaseharan A, Ahmed S, Thongprasom K, *et al*. A randomized controlled trial to compare steroid with cyclosporine for the topical treatment of Oral Lichen Planus. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*** 2006;102:47-55.
18. Thongprasom K, Chaimusig M, Korkij W, Sererat T, Luangjarmekorn L, Rojwattanasirivej S. A randomized-controlled trial to compare topical cyclosporine with triamcinolone acetonide for the treatment of oral lichen planus. ***J Oral Pathol Med*** 2007;36:142-6.
19. Thongprasom K, Mravak-Stipetić M, Luckprom P, Conjuga I, Biocina-Lukenda D, Vidović-Juras D. Oral lichen planus: a retrospective comparative study between Thai and Croatian patients. ***Acta Dermatovenerol Croat*** 2009;17:2-8.
20. Allen C, Richmond K. The Cochrane Collaboration: international activity within Cochrane Review Groups in the first decade of the twenty-first century. ***J Evid Based Med*** 2011;4:2-7.
21. Iamaroon A, Boonyawong P, Klanrit P, Prasongtunskul S, Thongprasom K. Characterization of oral pemphigus vulgaris in Thai patients. ***J Oral Sci*** 2006;48:43-6.
22. Thongprasom K, Prasongtanskul S, Fongkhum A, Iamaroon A. Pemphigus, discoid lupus erythematosus, and dermatomyositis during an 8-year follow-up period: a case report. ***J Oral Sci*** 2013;55:255-8.
23. Thongprasom K, Suvanpiyasiri C, Wongsa AS, Iamaroon A, Korkij W, Lohwongwatana B, *et al*. Nickel-induced pemphigus vulgaris-like lesion. ***Acta Stomatologica Croat*** 2011;45:202-8.
24. Thongprasom K, Sessririsombat S, Singkharotai K, Vathanasanti A, Subbalek K. Topical steroids and CO_2 laser in the treatment of refractory oral lichenoid drug reaction and lichenoid contact lesion: a case report. ***Acta Stomatologica Croat*** 2014;48:224-9.
25. Prucktrakul C, Youngnak-Piboonratanakit P, Kanjanabuch P, Prueksrisakul T, Thongprasom K. Oral lichenoid lesions and

serum antinuclear antibodies in Thai patients. ***J Oral Pathol Med*** 2014. doi: 10.1111/jop.12257.

26. Glick M, Greenberg MS, Ship JA. Introduction to oral medicine and oral diagnosis: Evaluation of the dental patient. Burket's Oral Medicine. 11th ed. Hamilton: Canada; 2008. p.1-16.

Review Article

Self-Adhesive Resin Cements

Awiruth Klaisiri[1] and Nantawan Krajangta[1]

[1]Department of Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Thammasat University, Khlong Luang, Pathumthani, Thailand

Correspondence to:

Awiruth Klaisiri. Faculty of Dentistry, Thammasat University, 99, Moo 18, Khlong 1, Khlong Luang, Pathumthani 12121 Thailand Tel: 02-9869213 Fax: 02-9869205 E-mail: Dentton@hotmail.com

Abstract

A self-adhesive resin cement system is produced for clinical use for the purpose of permanently luting indirect restoration onto abutment. This cement system essentially does not require any phosphoric etching or primer applying step in order to make a convenience and a simplified procedure. This leads to a wide use of self-adhesive resin cements in dental clinic. In principal, this resin cement is an acidic functional monomer-containing luting system. The acidic derivative, hydrophilic part, could modify tooth surface along with penetration into partially decalcified dentin and then chemically interact with residual hydroxyapatite. In addition, functional monomer also contains the unsaturated c=c, hydrophobic part, which could be polymerized to form a polymer network. Therefore, the bond strength may result from both of micro-mechanical interlocking and chemical bonding. One of the advantages of selfadhesive resin cement is no chemical agents for pretreatment on tooth surface prior to cementation with resin cement thereby minimizing the technique sensitivity and thus the risk of making errors when using acid etch and rinse system. However, the bond strength of self-adhesive resin cements is lower than those etch and rinse, and self-etch systems but it is more biocompatible than other resin cement systems.

Key words: Bond strength; Resin cement; Self-adhesive resin cements

Received Date: Sept 9, 2014, Accepted Date: Oct 22, 2014

บทความปริทัศน์

เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์

อวิรุทธ์ คล้ายศิริ[1] และนันทวรรณ กระจ่างตา[1]

[1]สาขาวิชาทันตกรรมหัตถการ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ คลองหลวง จังหวัดปทุมธานี

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

อวิรุทธ์ คล้ายศิริ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ 99 หมู่ 18 ต. คลองหนึ่ง อ. คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12121 โทรศัพท์: 02-9869213 โทรสาร: 02-9869205 อีเมล: Dentton@hotmail.com

บทคัดย่อ

ระบบเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ถูกผลิตขึ้นสำหรับใช้งานในคลินิกทันตกรรมเพื่อเป็นสารยึดชิ้นงานบูรณะเข้ากับฟันหลักแบบถาวร เรซินซีเมนต์ระบบนี้ไม่ต้องทำการปรับสภาพผิวฟันหลักด้วยกรดฟอสฟอริก หรือการทาด้วยสารไพรเมอร์ที่มีความเป็นกรด เพื่อให้เกิดความสะดวก และใช้งานง่าย ด้วยเหตุนี้ จึงทำให้มีการใช้เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ในคลินิกทันตกรรมอย่างกว้างขวาง หลักการของเรซินซีเมนต์ระบบนี้คือ การใช้มอนอเมอร์ที่หมู่ฟังก์ชันที่ชอบน้ำ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของกรดที่สามารถปรับสภาพผิวฟันพร้อมกับการแทรกซึมไปตามผิวฟันที่ถูกละลายแร่ธาตุพร้อมกับเกิดพันธะเคมีกับผลึกไฮดร็อกซีอะพาไทต์ที่ยังหลงเหลืออยู่ นอกจากนี้ มอนอเมอร์ยังประกอบด้วยหมู่ฟังก์ชันที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งมีพันธะไม่อิ่มตัวระหว่างธาตุคาร์บอนกับคาร์บอน ซึ่งจะเกิดพอลิเมอร์ระหว่างมอนอเมอร์เป็นโครงข่ายร่างแหตามมา ดังนั้น กำลังแรงยึดกับผิวฟันอาจเป็นผลจากการยึดติดเชิงกลระดับจุลภาค และด้วยพันธะเคมี ข้อดีประการหนึ่งของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์คือ สามารถใช้ยึดชิ้นงานกับผิวฟันได้เลย โดยไม่ต้องมีการเตรียมผิวฟันด้วยสารเคมีใด ๆ ก่อนการยึดด้วยเรซินซีเมนต์ จึงทำให้ลดความเสี่ยง และข้อผิดพลาดที่เกิดจากการปรับสภาพผิวเนื้อฟันได้ โดยเฉพาะกรณีที่ใช้ระบบกรดกัดแล้วล้างน้ำออก อย่างไรก็ตาม กำลังแรงยึดของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ยังคงด้อยกว่าเรซินซีเมนต์ระบบเอทช์แอนด์รินส์ และระบบเซลฟ์เอทช์ แต่เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์มีความเข้ากันทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อฟันได้ดีกว่าเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ

คำสำคัญ: กำลังแรงยึด; เรซินซีเมนต์; เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์

บทนำ

งานบูรณะฟันด้วยชิ้นงานที่ผลิตจากห้องปฏิบัติการ (indirect restoration) เช่น ครอบฟัน (crown) สะพานฟัน (bridge) วีเนียร์ (veneer) อินเลย์ (inlay) ออนเลย์ (onlay) ที่ทำจากวัสดุเรซินคอมโพสิต (resin composite) เซรามิก (ceramic) หรือโลหะเจือ (metal alloys) ต่าง ๆ เหล่านี้ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความสำเร็จ ได้แก่ การยึดติดระหว่างชิ้นงานกับเนื้อเยื่อฟันด้วยซีเมนต์ โดยซีเมนต์ทางทันตกรรมที่ใช้เป็นกาวยึด (luting) สามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่มใหญ่คือ ซิงก์ฟอสเฟตซีเมนต์ (zinc phosphate cement) โพลีคาร์บอกซีเลตซีเมนต์ (polycarboxylate cement) กลาสส์ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (glass ionomer cement) กลาสส์ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปรด้วยเรซิน (resin modified glass ionomer cement) และเรซินซีเมนต์ (resin cement) แม้ว่าซีเมนต์ทั้ง 5 กลุ่มนี้ จะมีการใช้งานกันอย่างกว้างขวาง และมีสมบัติที่โดดเด่นเฉพาะตัว แต่ก็ยังไม่มีซีเมนต์กลุ่มใดที่สามารถใช้ได้กับชิ้นงานบูรณะทุกชนิด

ในปัจจุบันเรซินซีเมนต์เป็นวัสดุที่มีบทบาทสำคัญ และนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการยึดชิ้นงานที่ผลิตจากห้องปฏิบัติการให้ติดกับตัวฟัน[1] เนื่องจากสมบัติเด่นคือ ความแข็งแรง การละลายตัวต่ำ การเกิดการรั่วซึมระหว่างรอยต่อของวัสดุกับตัวฟันต่ำ ยึดติดด้วยพันธะเคมีทั้งที่ฟันหลัก และชิ้นงาน และมีความสวยงามสูง แต่ข้อด้อยของเรซินซีเมนต์คือ วิธีการใช้งานที่ยุ่งยาก ไวต่อความชื้นสูง กำจัดซีเมนต์ส่วนเกินออกยาก และมีราคาแพงเมื่อเทียบกับซีเมนต์กลุ่มอื่น ๆ[2-6]

เรซินซีเมนต์สามารถแบ่งได้เป็น 3 ระบบ ตามวิธีการเตรียมผิวฟัน[7] *ระบบแรกคือ เรซินซีเมนต์ที่ใช้ร่วมกับระบบการยึดติดที่เตรียมผิวฟันโดยใช้กรดทาแล้วล้างออก (resin cement with etch and rinse adhesive system)* ระบบนี้เตรียมผิวฟันด้วยกรด ทั่วไปนิยมใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 30 - 40 เป็นเวลา 15 วินาที โดยกรดจะไปละลายแร่ธาตุในชั้นเคลือบฟันและกำจัดชั้นสเมียร์ ทำให้เกิดความขรุขระในระดับจุลภาค และเพิ่มพลังงานพื้นผิว เมื่อทาด้วยสารยึดติดจะเกิดการแทรกซึมไปตามรูพรุนเล็ก ๆ เกิดเป็นเรซินแท็ก ส่วนในเนื้อฟันกรดจะไปละลายแร่ธาตุ กำจัดชั้นสเมียร์ ทำให้เกิดการเผยของเส้นใยคอลลาเจน และท่อเนื้อฟันเปิดออก แต่พลังงานพื้นผิวลดลง จึงต้องทาสารไพรเมอร์เพื่อปรับสภาพเส้นใยคอลลาเจน และเพิ่มพลังงานพื้นผิว ส่งผลต่อการเพิ่มความสามารถในการไหลแผ่บนพื้นผิวเนื้อฟัน ดังนั้น เมื่อทาสารยึดติดจะเกิดการแทรกซึมไปตามช่องว่างระหว่างเส้นใยคอลลาเจน จากนั้นเกิดพอลิเมอร์และกลายเป็นชั้นไฮบริดในที่สุด เรซินซีเมนต์ระบบนี้มีข้อดีคือ ให้แรงยึดกับโครงสร้างของฟันที่สูง แต่มีข้อด้อยคือ มีการใช้งานที่ยุ่งยากหลายขั้นตอน ตัวอย่างเรซินซีเมนต์ระบบนี้ ได้แก่ ซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี (Superbond C&B®, Sun medical) วาริโอลิงค์ทู (Variolink II®, Ivoclar vivadent) เป็นต้น *ระบบที่สอง คือ เรซินซีเมนต์ที่ใช้ร่วมกับระบบการยึดติดแบบเซลฟ์เอทช์ (resin cement with self-etch adhesive system)* ระบบนี้มีขั้นตอนการใช้งานที่ง่ายขึ้น โดยรวมกรด และไพรเมอร์ หรือรวมกรด ไพรเมอร์และสารยึดติดเข้าด้วยกัน ไม่มีการกำจัดชั้นสเมียร์ มีเพียงการละลายแร่ธาตุ และปรับชั้นสเมียร์ให้เหมาะต่อการยึดติด เรซินซีเมนต์ระบบนี้มีข้อดีคือ ลดขั้นตอนการทำงาน ลดการเสียวฟันหลังการบูรณะ แต่มีข้อด้อยคือ ให้แรงยึดที่ต่ำกว่าซีเมนต์ระบบแรกที่กล่าวมา ตัวอย่างเรซินซีเมนต์ระบบนี้ ได้แก่ พานาเวียเอฟ (Panavia F®, Kuraray) มัลติลิงค์ออโตมิกซ์ (Multilink automix®, Ivoclar vivadent) เป็นต้น จนกระทั่งในปี ค.ศ. 2002[8] ได้*มีเรซินซีเมนต์ที่มีการยึดติดแบบเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟ (resin cement with self-adhesive system) หรือ เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ (self-adhesive resin cement)* ซึ่งจัดเป็น*ระบบที่สาม*ออกวางจำหน่าย

เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ เป็นการรวมสมบัติการปรับสภาพผิวด้วยกรด และการแทรกซึมของเรซินเข้าด้วยกัน และยังเป็นการรวมสมบัติของซีเมนต์กลุ่มดั้งเดิม และกลุ่มเรซินซีเมนต์ที่ใช้งานง่ายไม่ต้องเตรียมผิวฟัน และสามารถเกิดพอลิเมอร์ได้อีกด้วย[8] วัตถุประสงค์ของซีเมนต์ระบบนี้เพื่อลดขั้นตอนการทำงาน[1,9] สร้างกลไกการยึดติดเกิดทั้งเชิงกลระดับจุลภาค (micro-mechanical bonding) จากมอนอเมอร์ที่มีฤทธิ์เป็นกรด (acidic monomer) เพื่อละลายแร่ธาตุ ปรับสภาพ และยึดติดไปพร้อม ๆ กัน โดยเชื่อว่าสามารถเกิดการยึดติดด้วยพันธะเคมี (chemical bonding) ระหว่างมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชัน (functional group) กับไฮดร็อกซีอะพาไทต์ เนื่องจากเรซินซีเมนต์ระบบนี้ชั้นสเมียร์ไม่ได้ถูกกำจัดออก ไม่มีการเปิดของท่อเนื้อฟัน ไม่เกิดการเสียวฟัน[1,10,11] จึงทำให้เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ถูกใช้งานอย่างกว้างขวาง และเป็นที่นิยมมากขึ้น[1] แต่อย่างไรก็ตาม เรซินซีเมนต์ไวต่อความชื้นสูง จึงต้องควบคุมความชื้นให้ดีระหว่างการใช้งาน ตัวอย่างเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ เช่น รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม (RelyX Unicem®, 3M ESPE) แม็กเซ็ม (Maxcem®, Kerr) บิสเซ็ม (Biscem®, Bisco) มัลติลิงค์ สปลินท์ (Multilink splint®, Ivoclar vivadent) จีเซ็ม (G-Cem®, GC) เป็นต้น

ปัจจุบันมีเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์หลายผลิตภัณฑ์ และเริ่มเป็นที่นิยมมากขึ้น ดังนั้น การศึกษาสมบัติต่าง ๆ ของเรซินซีเมนต์ระบบนี้จึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้เกิดความเข้าใจ และนำไปใช้งานได้อย่างถูกต้องสำหรับยึดชิ้นงานเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด โดยบทความปริทัศน์นี้จะกล่าวถึงสมบัติต่าง ๆ ของเซลฟ์แอ็ด-

ฮีซีฟเรซินซีเมนต์ ดังนี้

1. สมบัติเชิงกล (Mechanical properties)

สมบัติเชิงกลของเรซินซีเมนต์คือ สมบัติที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับพฤติกรรมของเรซินซีเมนต์ที่บ่มตัวแล้วภายใต้แรงที่มากระทำ หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ เมื่อมีแรงจากภายนอกกระทำที่เรซินซีเมนต์แล้ว วัสดุนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร

เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์แต่ละผลิตภัณฑ์มีสมบัติเชิงกลที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัสดุ และประสิทธิภาพของการเกิดพอลิเมอร์ ตัวอย่างเช่น เรซินซีเมนต์ที่มีวัสดุอัดแทรกปริมาณสูง จะมีสมบัติเด่นด้านความทนแรงอัด การศึกส่วนประสิทธิภาพของการเกิดพอลิเมอร์จะส่งผลต่อกำลังแรงดึง กำลังแรงเฉือน และยังเกี่ยวข้องกับสมบัติทางกายภาพอื่น ๆ อีกด้วย อาทิเช่น การดูดน้ำ และการละลายตัวในน้ำ เป็นต้น

1.1 ปริมาณการเกิดพอลิเมอร์ (Degree of conversion)

ปริมาณการเกิดพอลิเมอร์คือ จำนวนของพันธะคู่ระหว่างธาตุคาร์บอน (c=c) ที่เปลี่ยนเป็นพันธะเดี่ยว (c-c) ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดพอลิเมอร์ โดยเรซินซีเมนต์ที่ก่อตัวด้วยปริมาณการเกิดพอลิเมอร์ที่สูงจะส่งผลให้ซีเมนต์มีสมบัติบางประการที่ดี ขณะที่การเกิดพอลิเมอร์ที่ไม่สมบูรณ์ มักมีมอนอเมอร์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาหลงเหลืออยู่เป็นปริมาณมาก และส่งผลให้ซีเมนต์มีสมบัติที่ด้อยลง Kumbuloglu และคณะ[12] ศึกษาปริมาณการเกิดพอลิเมอร์ของเรซินซีเมนต์ 4 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม รีไลเอ็กซ์เออาร์ซี วาริโอลิงค์ทู และพานาเวียเอฟ พบว่า ปริมาณการเกิดพอลิเมอร์ของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม มีค่าต่ำที่สุด โดยถ้าปล่อยให้มีการบ่มตัวเอง (self-curing) เพียงอย่างเดียวจะมีปริมาณการเกิดพอลิเมอร์เพียงร้อยละ 26 แต่ถ้ากระตุ้นด้วยแสง และปล่อยให้มีการบ่มร่วม (dual-curing) ปริมาณการเกิดพอลิเมอร์จะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 56 ในขณะที่เรซินซีเมนต์ผลิตภัณฑ์อื่น ๆ มีค่าปริมาณการเกิดพอลิเมอร์ร้อยละ 55 - 61 เมื่อปล่อยให้บ่มตัวเองเพียงอย่างเดียว และเพิ่มเป็นร้อยละ 64 - 81 เมื่อมีการกระตุ้นจากแสงร่วมด้วย

1.2 ความทนแรงอัด (Compressive strength) และกำลังดัดขวาง (Flexural strength)

ความทนแรงอัด และกำลังดัดขวาง เป็นการบอกถึงความแข็งแรงของวัสดุ โดยความแข็งแรงของเรซินซีเมนต์สามารถทำนายความสำเร็จ และอายุการใช้งานทางคลินิก เพราะค่าดังกล่าวสัมพันธ์กับการแตกหักในเนื้อซีเมนต์ และการหลุดของชิ้นงาน นอกจากนี้ ความแข็งแรงบอกถึงสมบัติของวัสดุในการต้านทานแรงบดเคี้ยวในช่องปาก Piwowarczyk และคณะ[13] ศึกษาความทนแรงอัดของเรซินซีเมนต์ 4 ผลิตภัณฑ์ คือ รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม รีไลเอ็กซ์เออาร์ซี วาริโอลิงค์ทู และพานาเวียเอฟ พบว่า รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีความทนแรงอัดประมาณ 198.3 – 240.6 เมกะพาสคาล ซึ่งต่ำกว่าเรซินซีเมนต์ผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่มีความทนแรงอัดอยู่ในช่วง 224.2 – 303.5 เมกะพาสคาล ขณะที่ Kumbuloglu และคณะ[12] รายงานว่ารีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีความทนแรงอัดเท่ากับ 145 เมกะพาสคาล ซึ่งสูงกว่าเรซินซีเมนต์ผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่มีความทนแรงอัดอยู่ระหว่าง 57 – 127 เมกะพาสคาล

ส่วนกำลังดัดขวางของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์เมื่อเทียบกับเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ[12,13] พบว่า กำลังดัดขวางของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีกำลังดัดขวางอยู่ในช่วง 49 – 63 เมกะพาสคาล ซึ่งต่ำกว่าเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ ที่มีกำลังดัดขวางอยู่ในช่วง 72 – 105.5 เมกะพาสคาล

1.3 การดูดน้ำ และการละลายตัวในน้ำ (Water sorption and solubility)

ปัญหาการดูดน้ำ และการละลายตัวในน้ำของเรซินซีเมนต์เป็นสาเหตุที่ทำให้เรซินซีเมนต์มีสมบัติเชิงกลที่ด้อยลง Vrochari และคณะ[14] ศึกษาการดูดน้ำ และการละลายตัวในน้ำของเรซินซีเมนต์ 5 ผลิตภัณฑ์ คือ รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม แม็กเซ็ม บิสเซ็ม มัลติลิงค์สปลินท์ และมัลติลิงค์ออโตมิกซ์ พบว่า แม็กเซ็ม และบิสเซ็ม ดูดน้ำและละลายตัวในน้ำมากกว่ารีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม มัลติลิงค์สปลินท์ และมัลติลิงค์ออโตมิกซ์ จากการศึกษานี้อาจสรุปได้ว่า ถึงแม้จะเป็นเรซินซีเมนต์ระบบเดียวกัน แต่อาจมีพฤติกรรมการดูดน้ำ และการละลายตัวในน้ำที่ต่างกันได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของเรซินซีเมนต์หลังก่อตัวเข้าสู่ความเป็นกลาง (neutral) ด้วยระยะเวลาที่ต่างกัน เพราะเรซินซีเมนต์ที่เป็นกลางจะดูดน้ำน้อย และละลายตัวในน้ำต่ำ ซึ่งพบว่า แม็กเซ็ม และบิสเซ็มจะเข้าสู่ความเป็นกลางได้ช้ากว่ารีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม และมัลติลิงค์สปลินท์

2. การยึดติดกับชั้นเคลือบฟัน (Bonding to enamel layer)

การยึดติดของซีเมนต์กับชั้นเคลือบฟัน สามารถทำนายความสำเร็จ และอายุการใช้งานของวัสดุบูรณะฟันได้ โดยเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ที่มีกำลังแรงยึดที่สูงจะสามารถยึดติดกับชั้นเคลือบฟันได้ดี ทำให้มีความสำเร็จทางคลินิกที่สูง และมีอายุการใช้งานที่ยาวนาน โดยกำลังแรงยึดสามารถวัดได้ทั้งแรงยึดเฉือน และแรงยึดดึง มีรายงานถึงวิธีที่ทำให้กำลังแรงยึดของเซลฟ์แอ็ด-ฮีซีฟเรซินซีเมนต์กับชั้นเคลือบฟันสูงขึ้นได้ เช่น การเตรียมผิวของชั้นเคลือบฟันโดยใช้กรดฟอสฟอริก แล้วล้างน้ำออกร่วมกับเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ หรือใช้กรดฟอสฟอริก แล้วล้างน้ำออก ตามด้วยการทาสารยึดติดร่วมกับการใช้เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ เป็นต้น

2.1 กำลังแรงยึดเฉือน (Shear bond strength) และกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค (Microtensile bond strength)

การศึกษากำลังแรงยึดของเรซินซีเมนต์ในชั้นเคลือบฟันมีทั้งกำลังแรงยึดเฉือน[15] และกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค[16] พบว่า

กำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มอยู่ในช่วง 14.5 – 19.6 เมกะพาสคาล[15,16] ซึ่งต่ำกว่าเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ ที่มีกำลังแรงยึดในช่วง 17.8 – 49.3 เมกะพาสคาล[15, 16] แต่รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีกำลังแรงยึดสูงกว่ากลาสส์ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีกำลังแรงยึดประมาณ 6.1 เมกะพาสคาล[15] และหลังจากการเร่งอายุด้วยการแช่น้ำสลับร้อนเย็น[15] พบว่า รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีกำลังแรงยึดที่ต่ำลงซึ่งแตกต่างกับเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ แต่กำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มยังคงสูงกว่ากลาสส์ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ผ่านการเร่งอายุด้วยสภาวะเดียวกัน เนื่องจากกลาสส์ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์มีระยะเวลาการก่อตัวที่ยาวนาน และช่วงที่ปฏิกิริยากำลังก่อตัวอยู่นั้น ช่วงต้นวัสดุชอบดูดน้ำ ขณะที่ช่วงท้ายอาจมีการสูญเสียน้ำออกไป หากไม่มีการเคลือบผิวของวัสดุอาจเป็นสาเหตุของค่าแรงยึดที่ต่ำได้[17]

2.2 การเตรียมผิวชั้นเคลือบฟัน (Enamel surface treatment)

การเตรียมผิวของชั้นเคลือบฟันโดยใช้กรดฟอสฟอริกร้อยละ 35 – 37 โดยปริมาตร แล้วล้างน้ำออกพบว่า ชั้นเคลือบฟันที่ถูกกรดละลายสารอนินทรีย์ออกไป จะเกิดการเผยของแท่งเคลือบฟัน (enamel rod) ก่อให้เกิดสภาพที่สนับสนุนการเกิดแรงยึดที่สูงขึ้น มีการศึกษาโดยใช้กรดฟอสฟอริกร้อยละ 35 - 37 เตรียมผิวเคลือบฟันก่อนที่จะยึดชิ้นงานด้วยรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม[16,18,19] พบว่า มีกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคสูงขึ้นโดยอยู่ในช่วง 35.2 – 35.6 เมกะพาสคาล ขณะที่ Peumans และคณะ[10] ศึกษาโดยการยึดชิ้นเซรามิกอินเลย์หรือเซรามิกออนเลย์ในผู้ป่วย 31 รายด้วยรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม ซึ่งการเตรียมผิวฟันมีทั้งชนิดที่ใช้ และไม่ใช้กรดฟอสฟอริกกัดผิวเคลือบฟันก่อนยึดชิ้นงานด้วยเรซินซีเมนต์ พบว่า การกัด หรือไม่กัดผิวเคลือบฟันด้วยกรดไม่มีผลต่อการเสียวฟันของผู้ป่วยหลังยึดชิ้นงานไปแล้ว นอกจากนี้อัตราการคงอยู่ของชิ้นงานสูงถึงร้อยละ 96.6 ภายในระยะเวลา 2 ปี

จากการศึกษาในภาวะเทียมนอกกาย (*in vitro*)[16,19] พบว่า การใช้กรดฟอสฟอริกกัดชั้นเคลือบฟันจะเพิ่มกำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มอย่างมีนัยสำคัญ เป็นการวัดแรงยึดเฉพาะที่ชั้นเคลือบฟันเท่านั้น แต่ Peumans และคณะ[10] ได้ทำการศึกษาบนฟันธรรมชาติในช่องปากผู้ป่วยจริง ซึ่งฟันที่ถูกกรอแต่ง มีทั้งเคลือบฟัน และเนื้อฟัน โดยโพรงฟันจะมีเคลือบฟันเฉพาะที่ขอบเท่านั้น ดังนั้น ผลลัพธ์ของกลุ่มที่กัด หรือไม่กัดด้วยกรดฟอสฟอริกที่ผิวฟันก่อนยึดชิ้นงานด้วยรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม จึงไม่แตกต่างกัน

การเตรียมผิวของชั้นเคลือบฟันร่วมกับการใช้สารยึดติดระบบออล-อิน-วัน ความเป็นกรดของมอนอเมอร์ในสารยึดติดสามารถกัดผิวของชั้นเคลือบฟันเกิดรูพรุนพร้อมกับมีการแทรกซึมของสารยึดติดลงไปในท่อเนื้อฟัน ทำให้เกิดการยึดติดเชิงกลระดับจุลภาคได้ นอกจากนี้ สารมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันสามารถเกิดการยึดติดด้วยพันธะเคมีกับไฮดร็อกซีอะพาไทต์บนผิวฟันได้อีกด้วย แต่จากการศึกษาถึงการเตรียมผิวเคลือบฟันด้วยสารยึดติดระบบออล-อิน-วัน[16,18] ร่วมกับรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม พบว่า กำลังแรงยึดสูงขึ้น แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เตรียมผิวชั้นเคลือบฟันด้วยสารยึดติดระบบออล-อิน-วัน[16]

นอกจากนี้ ยังพบว่า เมื่อใช้กรดฟอสฟอริกร้อยละ 35 ร่วมกับการใช้สารยึดติดระบบออล-อิน-วัน[18] จะให้กำลังแรงยึดที่สูงกว่าการใช้กรดฟอสฟอริกร้อยละ 35 – 37 หรือการใช้สารยึดติดระบบออล-อิน-วันเพียงอย่างเดียว ในการเตรียมผิวชั้นเคลือบฟัน เนื่องจากกรดฟอสฟอริกจะละลายสารอนินทรีย์ในเคลือบฟัน ทำให้เกิดการเผยของแท่งเคลือบฟัน และเกิดเป็นรูพรุนขนาดเล็ก ซึ่งสารยึดติดสามารถแทรกซึมได้ดี เมื่อเกิดพอลิเมอร์ก็จะเกิดการยึดติดเชิงกลระดับจุลภาค[16,18,19]

กำลังแรงยึดของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์กับชั้นเคลือบฟันมีค่าต่ำเนื่องจากความเป็นกรดของมอนอเมอร์ในซีเมนต์ชนิดนี้ไม่เพียงพอที่จะละลายแร่ธาตุในชั้นเคลือบฟัน[1,19] ทำให้เกิดการยึดติดเชิงกลระดับจุลภาคได้น้อย[20] ประกอบกับเรซินซีเมนต์มีความหนืดสูงทำให้การไหลแผ่ลงสู่ชั้นเคลือบฟันได้ลำบาก[1,19] จึงเกิดการยึดติดเฉพาะที่ส่วนต้นบนเคลือบฟันเท่านั้น ดังนั้น เมื่อใช้กรดฟอสฟอริกเตรียมผิวชั้นเคลือบฟัน[16,18,19] หรือใช้สารยึดติดร่วมด้วย[16,18] จะสามารถเพิ่มการยึดติดเชิงกลระดับจุลภาคได้ ทำให้มีกำลังแรงยึดที่สูงขึ้น

3. การยึดติดกับชั้นเนื้อฟัน (Bonding to dentin layer)

เนื้อฟันมีโครงสร้างที่ซับซ้อนแตกต่างจากเคลือบฟัน โดยในชั้นเนื้อฟันมีสารอินทรีย์มากกว่าเคลือบฟัน และยังมีส่วนของโปรตีนคอลลาเจนอยู่ด้วย ดังนั้น หากสามารถทำให้เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์สามารถยึดติดกับชั้นเนื้อฟันได้ดี จะส่งผลต่อความสำเร็จทางคลินิกที่สูง แต่งานวิจัยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในภาวะเทียมนอกกาย โดยวัดกำลังแรงยึดระหว่างซีเมนต์กับเนื้อฟันมีทั้งแรงเฉือน[21] และแรงดึง[22]

3.1 กำลังแรงยึดเฉือน (Shear bond strength) และกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค (Microtensile bond strength)

การศึกษากำลังแรงยึดระหว่างเรซินซีเมนต์กับเนื้อฟันมีทั้งแรงยึดเฉือน[21] และแรงยึดดึงระดับจุลภาค[22] พบว่า กำลังแรงยึดเฉือน[21] ของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์อยู่ในช่วง 8.6 – 9.2 เมกะพาสคาล ซึ่งต่ำกว่าเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ ที่อยู่ในช่วง 10.3 – 15.6 เมกะพาสคาล และกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค[22] ของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์อยู่ในช่วง 4.6 – 16.9 เมกะพาสคาล ซึ่งต่ำกว่าเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ ที่อยู่ในช่วง 33.7 – 69.9 เมกะพาสคาล ได้มีการอธิบายกำลังแรงยึดที่ต่ำของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์อาจเป็นผลมาจาก 1) หลังการผสมส่วนประกอบของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์เข้าด้วยกัน วัสดุจะมีฤทธิ์ความเป็นกรด-ด่างต่ำ

ในช่วง 1 - 2 นาทีแรก[22] จากนั้นค่าความเป็นกรด-ด่างจะค่อย ๆ เข้าสู่ความเป็นกลาง ดังนั้น ความเป็นกรดในช่วงแรก ๆ จึงมีฤทธิ์ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการละลายสารอินทรียในชั้นเนื้อฟัน[9,22,23] จึงไม่มีชั้นไฮบริดเกิดขึ้นเหมือนการปรับสภาพเนื้อฟันด้วยกรดกัดแล้วล้างน้ำออก หรือการใช้เซลฟ์เอทช์ไพรเมอร์ได้[23] แต่บริเวณรอยต่อระหว่างเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ และเนื้อฟันจะเกิดเป็นชั้นที่ผสมผสานกันของเรซินเมทริกซ์ วัสดุอัดแทรก แคลเซียมฟอสเฟตที่ถูกละลายด้วยมอนอเมอร์ที่มีความเป็นกรด และก้อนสเมียร์ ด้วยลักษณะโครงสร้างแบบนี้จึงทำให้มีกำลังแรงยึดเฉือนต่ำ ได้มีการพยายามทำให้ความเป็นกรด-ด่างในช่วงแรกมีค่าต่ำลงและยาวนานขึ้น[23] แต่กลับส่งผลให้เรซินซีเมนต์มีความชอบน้ำมากขึ้น และขัดขวางการเกิดพอลิเมอร์ได้[23] 2) เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์มีวัสดุอัดแทรกมากกว่าร้อยละ 60 ทำให้มีความหนืดสูง[22] เมื่อเทียบกับสารยึดติด จึงไม่สามารถแทรกซึมลงไปในท่อเนื้อฟันได้ 3) ผลของความเป็นกลาง (neutralized effect)[22]ของวัสดุจะทำให้เรซินซีเมนต์มีสมบัติที่ดีขึ้นในด้านลดการดูดน้ำ และลดการละลายตัว แต่การเข้าสู่ความเป็นกลางอย่างรวดเร็วทำให้มอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชันของกรดไม่สามารถละลายแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันได้อย่างเพียงพอ แต่ Abo-Hamar และคณะ[15] ได้ศึกษากำลังแรงยึดเฉือนของเนื้อฟันใช้เรซินซีเมนต์คือ รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม วาริโอลิงค์ทู พานาเวียเอฟ ไดแร็กท์เซ็มพลัส และคีแท็กเซ็ม พบว่ากำลังแรงยึดเฉือนของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเรซินซีเมนต์ตัวอื่น ๆ

3.2 การเตรียมผิวเนื้อฟัน (Dentin surface treatment)

จากงานวิจัยหลายฉบับที่ศึกษาวิธีปรับสภาพผิวเนื้อฟันด้วยสารยึดติดเนื้อฟันระบบต่าง ๆ[7,9,24] เมื่อใช้รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มร่วมกับใช้สารยึดติดเนื้อฟัน เช่น อ็อพติบอนด์เอฟแอล (Optibond FL) และจีบอนด์ (G-bond) ให้ กำลังแรงยึดอยู่ในช่วง 16.5 – 16.91 เมกะพาสคาล ซึ่งสูงกว่าการไม่ใช้สารยึดติดเนื้อฟันที่มีกำลังแรงยึดอยู่ในช่วง 7.1 – 12.81 เมกะพาสคาล[7,9] เนื่องจากเมื่อใช้สารยึดติดเนื้อฟันระบบ 3 ขั้นตอน หรือระบบเซลฟ์เอทช์ทำให้เกิดการละลายแร่ธาตุในชั้นเนื้อฟันได้ดี เกิดการแทรกซึมของสารยึดติดไปตามช่องว่างของเส้นใยคอลลาเจน และลงไปในท่อเนื้อฟัน เกิดการยึดติดเชิงกลระดับจุลภาค ทำให้มีกำลังแรงยึดที่สูง

กรณีการใช้กรดกัดผิวเนื้อฟันแล้วล้างออก และไม่ทาสารยึดติด เมื่อยึดชิ้นทดสอบด้วยเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์จะให้กำลังแรงยึดต่ำกว่ากรณีที่เนื้อฟันไม่ถูกกัดด้วยกรด ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า กรดจะสลายแร่ธาตุที่ผิวเนื้อฟันออกไปทำให้เส้นใยคอลลาเจนเผย และเส้นใยคอลลาเจนอาจเกิดการฟุบ หากเป่าผิวเนื้อฟันจนแห้ง ประกอบกับเรซินซีเมนต์ซึ่งมีความหนืดสูงจึงไม่สามารถไหลแผ่ไปตามช่องว่างระหว่างเส้ใยคอลลาเจนได้[9] การยึดติดเชิงกลระดับจุลภาคจึงเกิดได้น้อย ขณะที่กลุ่มที่สารยึดติดโดยเฉพาะระบบออล-อิน-วัน ผลิตภัณฑ์จีบอนด์ หรือจะเรียกว่าเป็นสารยึดระบบเซลฟ์เอทช์ ซึ่งเป็นสารที่มีความเหลวสูง และมีฟอสเฟสเอสเทอร์เป็นมอนอเมอร์ ซึ่งมีหมู่ฟังก์ชันที่มีฤทธิ์เป็นกรดและสามารถเกิดพันธะเคมีกับแคลเซียมไอออนได้ จึงเกิดการยึดติดทั้งเชิงกลระดับจุลภาค และด้วยพันธะเคมี โดยการยึดติดเชิงกลระดับจุลภาคเกิดจากการมอนอเมอร์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 2 สามารถละลายชั้นสเมียร์ และแร่ธาตุที่ผิวเนื้อฟันออกได้บางส่วน ทำให้เกิดรูพรุนขึ้น ส่วนการยึดด้วยพันธะเคมีเกิดจากการละลายแร่ธาตุออกไปบางส่วน แต่ผลึกไฮดร็อกซีอะพาไทต์ยังหลงเหลืออยู่ จึงสามารถสร้างพันธะกับฟอสเฟสเอสเทอร์มอนอเมอร์ได้[7] จากงานวิจัยของ Ibarra และคณะ[24] พบว่า การเตรียมผิวของชั้นเนื้อฟันด้วยสารยึดติดเนื้อฟันระบบออล-อิน-วัน ผลิตภัณฑ์แอ็ดเปอร์พรอมพท์แอลป๊อบ (Adper prompt L-pop) ก่อนการยึดด้วยรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มให้กำลังแรงยึดที่ต่ำกว่าการไม่เตรียมผิวของชั้นเนื้อฟันก่อนการยึดด้วยรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม อาจเป็นเพราะสารยึดติดเนื้อฟันระบบเซลฟ์เอทช์มีมอนอเมอร์ที่มีฤทธิ์เป็นกรดหลงเหลืออยู่ ทำปฏิกิริยากับสารเอมีนตติยภูมิ (tertiary amine) ที่เป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาแบบบ่มเอง (self-curing) ในเรซินซีเมนต์ ทำให้สารเอมีนตติยภูมิมีปริมาณลดลงจนไม่สามารถกระตุ้นเบนโซอิลเพอร์อ็อกไซด์ (benzoyl peroxide) ให้เกิดอนุมูลอิสระ จึงส่งผลต่อเกิดการพอลิเมอร์ของเรซินซีเมนต์ได้[21] นอกจากนี้การใช้สารยึดติดระบบเซลฟ์เอทช์จะทำให้เกิดชั้นที่น้ำแพร่ผ่านบางส่วนได้ (semi-permeable membrane) ทำให้น้ำที่อยู่ในชั้นเนื้อฟันสามารถซึมผ่านมายังบริเวณรอยต่อของเรซินซีเมนต์ ส่งผลเสียต่อการยึดติดได้

เป็นที่ทราบกันว่า กรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 35 - 40 สามารถสลายแร่ธาตุที่โครงสร้างของฟันได้ โดยเฉพาะเมื่อใช้กรดนี้ปรับสภาพเนื้อฟัน จะเกิดการเผยของเส้นใยคอลลาเจน ดังนั้นเมื่อใช้เป่าลมที่เนื้อฟันจนแห้งเกินไป มักก่อให้เกิดการฟุบตัวของเส้นใยคอลลาเจนซึ่งยากต่อการแทรกซึมของเรซินซีเมนต์[9] จึงมีงานวิจัยที่ใช้กรดอ่อนเป็นสารปรับสภาพผิวเพื่อกำจัดชั้นสเมียร์ออกจากผิวหน้าของเนื้อฟัน โดย Mazzitelli และคณะ[25] ใช้กรดอ่อน 2 ชนิดคือ เอทิลีนไดอะมีนเททราอะซีติก (ethylene diamine tetra-acetic acid, EDTA, อีดีทีเอ) และกรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic acid, PAA, พีเอเอ) เข้มข้นร้อยละ 10 ร่วมกับเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ 3 ผลิตภัณฑ์ คือ รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม บิสเซ็ม และจีเซ็ม พบว่า การปรับหรือไม่ปรับสภาพผิวเนื้อฟันด้วยอีดีทีเอ หรือพีเอเอ สำหรับกลุ่มรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคไม่แตกต่างกัน ด้วยเหตุผลที่ว่า รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีสมบัติไม่ชอบน้ำ และมีความหนืดสูง สำหรับกลุ่มบิสเซ็ม พบว่า

การปรับสภาพผิวเนื้อฟันด้วยอีดีทีเอ หรือพีเอเอ ทำให้แรงยึดดึงลดลง ซึ่งอาจเกิดจากไฮดร็อกซีเอทิลเมทาคริเลต หรือฮีมา (hydroxyethyl methacrylate, HEMA) ที่มีอยู่ในบีสเซ็มเป็นสารที่ชอบดูดน้ำ ซึ่งอาจรบกวนต่อการเกิดพอลิเมอร์ของซีเมนต์ได้[26] เนื่องจากน้ำจะทำหน้าที่คล้ายเป็นสารพลาสติไซเซอร์ (plasticizer)[27] และส่งผลต่อแรงยึดนั่นเอง[28] ขณะที่กลุ่มของจีเซ็ม การปรับสภาพผิวเนื้อฟันด้วยพีเอเอจะช่วยเพิ่มแรงยึดดึงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเกิดจากจีเซ็มเป็นเรซินซีเมนต์ที่มีองค์ประกอบหลักคือสารโฟร์เมทา (4-methacryloyloxyethyl trimellitate anhydride, 4-META) น้ำ และฟลูออโรอะลูมิโนซิลิเกตกลาสส์ (fluoro-alumino-silicate glass) โดยเฉพาะโฟร์เมทานั้น เป็นอนุพันธ์ของกรดฟอสฟอริก เมื่อสัมผัสน้ำจะแสดงสมบัติความเป็นกรดซึ่งอาจสามารถสะลายแร่ธาตุที่ผิวเนื้อฟันได้พร้อมกับแทรกซึมไปตามรูพรุนที่เกิดขึ้น เมื่อเกิดพอลิเมอร์จึงทำให้มีแรงยึดดึงที่สูงขึ้น

4. การยึดติดกับชั้นเนื้อฟันของคลองรากฟัน (Bonding to root canal)

4.1 กำลังแรงยึดเนื้อฟันของคลองรากฟัน (Dentin bond strength of root canal)

การศึกษากำลังแรงยึดเนื้อฟันของคลองรากฟัน[29,30] พบว่า กำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มอยู่ในช่วง 5.01 – 9.1 เมกะพาสคาล ซึ่งต่ำกว่าเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ ที่อยู่ในช่วง 5.04 – 12.3 เมกะพาสคาล[29,30] และเมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (Transmission Electron Microscopy, TEM)[30] พบว่า เอทช์แอนด์รินส์เรซินซีเมนต์สามารถกำจัดชั้นสเมียร์ออกอย่างสมบูรณ์ โดยเกิดชั้นไฮบริดที่มีความหนา 8 - 10 ไมโครเมตร ในขณะที่เรซินซีเมนต์อีก 2 ระบบยังคงมีชั้นสเมียร์ และก้อนสเมียร์หลงเหลืออยู่ โดยในเซลฟ์เอทช์เรซินซีเมนต์ เกิดชั้นไฮบริดที่มีความหนา 1 - 1.5 ไมโครเมตร แต่ในเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ไม่มีชั้นไฮบริดเกิดขึ้น[30] จากกำลังแรงยึดที่ต่ำของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ อาจเป็นผลจากความเป็นกรด-ด่างของมอนอเมอร์ที่ไม่เพียงพอ ไม่สามารถเกิดการละลายแร่ธาตุ ไม่มีชั้นไฮบริด ทำให้มีกำลังแรงยึดที่ต่ำ[29,30] แต่มีบางการศึกษากลับพบว่า กำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มสูงกว่าเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ[31, 32] โดยพบว่า กำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีค่า 20.4 เมกะพาสคาล[32] ซึ่งสูงที่สุด ขณะที่เรซินซีเมนต์ตัวอื่น ๆ มีค่าอยู่ในช่วง 9.5 - 14.9 เมกะพาสคาล[32] และพบว่า รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีความหนาของชั้นไฮบริดน้อยที่สุดประมาณ 0.07 ไมโครเมตร[32] นอกจากนี้ ยังพบว่า มีจำนวนของเรซินแท็กที่แทรกซึมลงไปในท่อเนื้อฟันแบบกระจัดกระจาย และมีปริมาณน้อยสุดด้วย[32] จากการที่กำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มสูงที่สุด[31,32] อาจจะสรุปได้ว่า 1) การเข้าสู่สภาวะความเป็นกลาง (neutral) ของตัววัสดุซึ่งเกิดจากปฏิกิริยากรด-ด่างระหว่างมอนอเมอร์กับวัสดุอัดแทรก และระหว่างมอนอเมอร์กับไฮดร็อกซีอะพาไทต์ที่ผนังคลองรากฟัน จึงทำให้รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มมีความคงทนต่อความชื้น เมื่อใช้ในเนื้อฟันของคลองรากฟันที่สามารถควบคุมความชื้นได้ยาก[31] 2) ความหนาของชั้นไฮบริดและการแทรกซึมของเรซินแท็กที่แทรกซึมลงไปในท่อเนื้อฟันไม่มีผลต่อกำลังแรงยึดที่เนื้อฟันของคลองรากฟันกับเรซินซีเมนต์[32] แต่ผลจากการมีการยึดด้วยพันธะเคมีที่เกิดจากมอนอเมอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของกรดฟอสฟอริกทำปฏิกิริยากับไฮดร็อกซีอะพาไทต์ในเนื้อฟัน[7,9,21-23,25,33] จึงทำให้กำลังแรงยึดระหว่างผนังคลองรากฟันกับเรซินซีเมนต์มีค่าสูง

ส่วนจากการเร่งอายุชิ้นทดสอบโดยการแช่น้ำสลับร้อนเย็นด้วยเครื่องเทอร์โมไซคลิง[31,34] พบว่า กำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มสูงขึ้น ในขณะที่เรซินซีเมนต์ตัวอื่น ๆ ไม่พบการเปลี่ยนแปลง[31] แต่ในอีกการศึกษาหนึ่ง[34] กลับพบว่า หลังการเร่งอายุด้วยการทำเทอร์โมไซคลิงกำลังแรงยึดของรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม และเรซินซีเมนต์ตัวอื่น ๆ ล้วนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยให้เหตุผลว่า หลังจากการเกิดพอลิเมอร์ที่สมบูรณ์แล้ว เรซินซีเมนต์จะดูดน้ำระหว่างที่เก็บชิ้นทดสอบไว้ในน้ำ ซึ่งทำให้เกิดการขยายตัว (hygroscopic expansion) ขึ้น ส่งผลให้เกิดความแนบสนิทของเรซินซีเมนต์กับเนื้อฟันของคลองรากฟัน และทำให้มีกำลังแรงยึดสูงขึ้นได้[34]

5. ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility)

เมื่อมีวัสดุบูรณะสัมผัสกับเนื้อฟันปัญหาที่นักวิจัยกังวลคือ การซึมผ่านของสารเคมีจากวัสดุเข้าสู่เนื้อเยื่อในโพรงฟัน (pulp tissue)[35] เนื่องจากมีรายงานว่า สารมอนอเมอร์ที่หลุดออกจากวัสดุสามารถทำให้เกิดภยันตรายต่อเนื้อเยื่อเซลล์มนุษย์ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้[36,37] จากการศึกษาของ Costa และคณะ[38] ได้ศึกษาถึงการตอบสนองของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ต่อเรซินซีเมนต์ผลิตภัณฑ์รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม และวาริโอลิงค์ทู ในการยึดติดงานบูรณะชนิดอินเลย์ พบว่า 7 วันหลังจากการใช้รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มเกิดการรบกวน และการอักเสบระดับต่ำถึงปานกลางขึ้นในชั้นของโอดอนโตบลาสท์ เนื่องจาก เกิดการหลั่งสารเมดิเอเตอร์ (mediator) ของโมโนนิวเคลียร์เซลล์ (mononuclear cell) เกิดการเพิ่มจำนวนของเส้นเลือดแดงขนาดเล็ก (arterioles) เกิดการคั่งของสารในหลอดเลือดที่ชั้นของโอดอนโตบลาสท์ นอกจากนี้ ยังไม่มีการแทรกซึมของเรซินแท็กลงในท่อเนื้อฟันด้วย

หลังจากการใช้รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มยึดติดงานบูรณะชนิดอินเลย์หลัง 60 วัน พบว่า ไม่พบการอักเสบ และมีลักษณะทางมิญชวิทยา (histology) ที่ปกติ และไม่พบการแทรกซึมของเรซินแท็กลงในท่อเนื้อฟันหลังจากใช้วาริโอลิงค์ทู การยึดติดงานบูรณะชนิดอินเลย์หลัง 7 วัน พบการอักเสบระดับปานกลาง อาจพบโอดอนโตบลาสท์เซลล์อยู่ในท่อเนื้อฟันได้ มีเซลล์อักเสบ เช่น โมโนนิวเคลียร์เซลล์อยู่ในชั้นของโอดอนโตบลาสท์ มีการขยายของ

หลอดเลือด และมีการคั่งของสารในหลอดเลือด นอกจากนี้ ยังพบเรซินแท็กที่ยาวลงไปในท่อเนื้อฟันอีกด้วยหลังจากใช้วาริโอลิงค์ทู เพื่อยึดติดงานบูรณะชนิดอินเลย์เป็นเวลา 60 วัน พบว่า ยังคงมีการอักเสบระดับปานกลางอยู่ และสามารถพบเซลล์ของการอักเสบได้

จากการศึกษาสรุปได้ว่า เรซินซีเมนต์ระบบเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟ ซึ่งในการศึกษานี้คือ รีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็มก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์น้อยกว่าเรซินซีเมนต์ระบบเอทช์แอนด์รินส์ ในการศึกษานี้คือ วาริโอลิงค์ทู เนื่องจาก 1) การยึดด้วยพันธะเคมีกับโครงสร้างของฟันได้จากการที่มีหมู่มอนอเมอร์ที่เป็นอนุพันธ์ของกรดฟอสฟอริก 2) มีการละลายตัวในน้ำต่ำ 3) การเกิดความเป็นกลาง โดยในช่วงแรกจะมีค่าความเป็นกรดที่สูงจากนั้นจะเกิดการปรับสภาพให้เป็นกลางอย่างรวดเร็ว ถึงแม้ว่าความเป็นกรดในช่วงแรกจะสามารถทำให้เกิดการอักเสบได้บ้าง แต่หลังจากนั้นการอักเสบก็จะค่อย ๆ หายไป 4) การที่ชั้นสเมียร์และก้อนสเมียร์ไม่ถูกกำจัดออกไป จึงเป็นทางขวางกั้นตามธรรมชาติที่ป้องกันไม่ให้เนื้อเยื่อในโพรงฟันได้รับภยันตรายจากกรด

นอกจากนี้ ความหนาของเนื้อฟันที่เหลืออยู่ (remaining dentin thickness, RDT) ก็เป็นปัจจัยหนึ่งของการรบกวนเนื้อเยื่อในโพรงฟันจากเรซินซีเมนต์ โดยพบว่า ความหนาของเนื้อฟันที่เหลืออยู่ 223 ไมโครเมตร จะส่งผลต่อเนื้อเยื่อในโพรงฟันได้หลังจากการยึดติดงานบูรณะชนิดอินเลย์หลัง 60 วันด้วยรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม และพบว่า ความหนาของเนื้อฟันที่เหลืออยู่มากกว่า 500 ไมโครเมตร สามารถป้องกันภยันตรายจากสารเคมีของวาริโอลิงค์ทูหลังจากการยึดติดงานบูรณะชนิดอินเลย์หลัง 60 วันได้

บทสรุป

เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ถูกผลิตขึ้นมา โดยมีวัตถุประสงค์ในการลดขั้นตอนการทำงาน เพื่อให้ใช้งานในคลินิกได้สะดวกมีการใช้งานกันอย่างกว้างขวาง และเป็นที่นิยมมากขึ้น ซึ่งเป็นการรวมการใช้กรดกัด และการแทรกซึมของเรซินเอาไว้ด้วยกัน กลไกการยึดติดได้ทั้งจากเชิงกลระดับจุลภาค เกิดจากการที่ผิวฟันที่ถูกกรอแต่งและจากมอนอเมอร์ที่เป็นกรดที่สามารถละลายแร่ธาตุปรับสภาพ และเคลือบสารยึดติดไปพร้อม ๆ กัน และกลไกการยึดด้วยพันธะเคมี เกิดจากมอนอเมอร์ที่มีหมู่หน้าที่กับส่วนของไฮดร็อกซีอะพาไทต์ที่ผิวฟัน นอกจากนี้ ชั้นสเมียร์จะไม่ถูกกำจัดออกจึงไม่ทำให้เกิดการเสียวฟัน แต่เนื่องจากอยู่ในกลุ่มของเรซินซีเมนต์จึงมีความไวต่อความชื้นสูง จึงจำเป็นต้องควบคุมความชื้นให้ดีก่อนทำการยึดชิ้นงาน

จากสมบัติเด่นของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์คือ เรซินซีเมนต์ระบบนี้สามารถใช้ยึดชิ้นงานกับผิวฟันได้เลย โดยไม่ต้องมีการเตรียมผิวฟันก่อนยึดชิ้นงาน ทำให้ลดความเสี่ยง และข้อผิดพลาดที่เกิดจากการเตรียมฟันได้ แต่เรื่องสมบัติบางประการยังคงด้อยกว่าเรซินซีเมนต์ระบบที่ใช้ร่วมกับระบบการยึดติดแบบเอทช์แอนด์รินส์ และระบบที่ใช้ร่วมกับระบบการยึดติดแบบเซลฟ์เอทช์ เช่น กำลังแรงยึดทั้งชนิดกำลังแรงยึดเฉือน และชนิดกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคในชั้นเคลือบฟัน และเนื้อฟัน ยังคงต่ำกว่าเรซินซีเมนต์ทั้ง 2 ระบบที่กล่าวมา แต่อย่างไรก็ตาม กำลังแรงยึดของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ยังคงสูงกว่าซีเมนต์แบบดั้งเดิม และกลุ่มกลาสส์ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ จึงแนะนำให้เป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นสารยึดติดแทนซีเมนต์กลุ่มซีเมนต์แบบดั้งเดิม และกลุ่มกลาสส์-ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ นอกจากนี้ มีการแนะนำให้ใช้เรซินซีเมนต์ระบบนี้ในการยึดติดวัสดุบูรณะฟันที่มีความต้านทานต่อการหลุดค่อนข้างดี[22] และไม่แนะนำให้ใช้ในงานวีเนียร์ เนื่องจากมีความต้านทานต่อการหลุดที่ต่ำ[22]

การเตรียมผิวชั้นเคลือบฟัน และเนื้อฟัน พบว่า ถ้ามีการใช้สารยึดติดร่วมกับการใช้เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ จะทำให้มีกำลังแรงยึดสูงขึ้น จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มการยึดติดของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์[16,18]

แต่จากการศึกษากำลังแรงยึดของเซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ มีทั้งชนิดกำลังแรงยึดเฉือน และชนิดกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค[9,15,16,18-22] ซึ่งทำในห้องปฏิบัติการที่มีวิธีการทดสอบที่ต่างกัน และทำในสภาวะที่ต่าง ๆ กัน เช่น อุณหภูมิที่ทำการทดสอบ จำนวนรอบของการเร่งอายุด้วยการแช่น้ำสลับร้อนเย็น จึงเป็นไปได้ยากที่จะนำกำลังแรงยึดที่ได้มาเปรียบกันเอง และเปรียบเทียบกับสภาวะการใช้งานจริงในช่องปาก

นอกจากนี้ เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ยังมีความเข้ากันทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อฟันได้ดีกว่าเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ อาจเป็นผลมาจากความเป็นกรดของเรซินซีเมนต์ระบบนี้ไม่สามารถจะละลายแร่ธาตุในเนื้อเยื่อฟันได้ จึงทำให้กรดไม่สามารถไปรบกวนเนื้อเยื่อในโพรงฟันได้ และความหนาของเนื้อฟันที่เหลืออยู่ก็มีส่วนสำคัญในการป้องกันอันตรายแก่เนื้อเยื่อในโพรงฟันได้อีกด้วย

อย่างไรก็ตาม เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ถูกผลิตออกมาได้ไม่นาน ยังไม่มีการศึกษาผลทางคลินิกในระยะยาวอย่างเพียงพอ จึงจำเป็นต้องติดตามผลการวิจัยทางคลินิกต่อไป เพื่อให้สามารถมีอายุงานใช้งานที่ยาวนาน[10] มีประสิทธิภาพในการใช้งานที่ดีที่สุด และเกิดประโยชน์สูงสุดต่อตัวผู้ป่วยได้

เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์เป็นกาวยึดวัสดุบูรณะฟันที่มีสมบัติเด่นคือ สามารถเกิดการยึดติดด้วยพันธะเคมีกับโครงสร้างฟัน

มีการเข้ากันได้ทางชีวภาพ และมีค่าการละลายตัวในน้ำที่ต่ำโดย เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟ เรซินซีเมนต์เป็นระบบกาวยึดที่ไม่ต้องมีการเตรียมสภาพผิวของฟันหลัก ประกอบกับเรซินซีเมนต์ชนิดนี้มีความหนืดสูง ส่งผลให้สมบัติส่วนใหญ่มีค่าต่ำเมื่อเทียบกับเรซินซีเมนต์ระบบอื่น ๆ จึงมีบางการศึกษาแนะนำให้มีการเตรียมสภาพผิวฟัน หรือใช้สารยึดติดร่วมกับการใช้เซลฟ์แอ็ดฮีซีฟเรซินซีเมนต์เพื่อปรับปรุงสมบัติให้ดีขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

กราบขอบพระคุณ อ.ทพญ.จารุพรรณ อุ่นสมบัติ อาจารย์ประจำภาควิชาทันตกรรมหัตถการ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ ผศ. ทพ. ดร. นิยม ธำรงค์อนันต์สกุล อาจารย์ประจำภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยให้คำปรึกษา และชี้แนะในการเขียนบทความครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Cantoro A, Goracci C, Carvalho CA, Coniglio I, Ferrari M. Bonding potential of self-adhesive luting agents used at different temperatures to lute composite onlays. ***J Dent*** 2009;37:454-61.
2. Christensen GJ. Why use resin cements? ***J Am Dent Assoc*** 2010;141:204-6.
3. Weiner R. An advanced self-etching resin cement: clinical application. ***Dent Today*** 2008;27:82, 84.
4. Burgess JO, Ghuman T, Cakir D. Self-adhesive resin cements. ***J Esthet Restor Dent*** 2010;22:412-9.
5. Christensen GJ. Resin cements and postoperative sensitivity. ***J Am Dent Assoc*** 2000;131:1197-9.
6. Christensen GJ. Should resin cements be used for every cementation? ***J Am Dent Assoc*** 2007;138:817-9.
7. El-Guindy J, Selim M, El-Agroudi M. Alternative pretreatment modalities with a self-adhesive system to promote dentin/alloy shear bond strength. ***J Prosthodont*** 2010;19:205-11.
8. Radovic I, Monticelli F, Goracci C, Vulicevic ZR, Ferrari M. Self-adhesive resin cements: a literature review. ***J Adhes Dent*** 2008;10:251-8.
9. Brunzel S, Yang B, Wolfart S, Kern M. Tensile bond Strength of a so-called self-adhesive luting resin cement to dentin. ***J Adhes Dent*** 2010;12:143-50.
10. Peumans M, De Munck J, Van Landuyt K, Poitevin A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Two-year clinical evaluation of a self-adhesive luting agent for ceramic inlays. ***J Adhes Dent*** 2010;12:151-61.
11. Taschner M, Frankenberger R, García-Godoy F, Rosenbusch S, Petschelt A, Krämer N. IPS Empress inlays luted with a self-adhesive resin cement after 1 year. ***Am J Dent*** 2009;22:55-9.
12. Kumbuloglu O, Lassila LV, User A, Vallittu PK. A study of the physical and chemical properties of four resin composite luting cements. ***Int J Prosthodont*** 2004;17:357-63.
13. Piwowarczyk A, Lauer HC. Mechanical properties of luting cements after water storage. ***Oper Dent*** 2003;28:535-42.
14. Vrochari AD, Eliades G, Hellwig E, Wrbas KT. Water sorption and solubility of four self-etching, self-adhesive resin luting agents. ***J Adhes Dent*** 2010;12:39-43.
15. Abo-Hamar SE, Hiller KA, Jung H, Federlin M, Friedl KH, Schmalz G. Bond strength of a new universal self-adhesive resin luting cement to dentin and enamel. ***Clin Oral Investig*** 2005;9:161-7.
16. Hikita K, Van Meerbeek B, De Munck J, Ikeda T, Van Landuyt K, Maida T, *et al.* Bonding effectiveness of adhesive luting agents to enamel and dentin. ***Dent Mater*** 2007;23:71-80.
17. Mount GJ, Bryant RW. Glass-ionomer materials; In: Mount GJ, Hume WR, editors. Preservation and restoration of tooth structure. 1st ed. London, UK: Mosby; 1998. p. 77-78.
18. Lin J, Shinya A, Gomi H, Shinya A. Bonding of self-adhesive resin cements to enamel using different surface treatments: bond strength and etching pattern evaluations. ***Dent Mater J*** 2010;29:425-32.
19. De Munck J, Vargas M, Van Landuyt K, Hikita K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bonding of an auto-adhesive luting material to enamel and dentin. ***Dent Mater*** 2004;20:963-71.
20. Goracci C, Cury AH, Cantoro A, Papacchini F, Tay FR, Ferrari M. Microtensile bond strength and interfacial properties of self-etching and self-adhesive resin cements used to lute composite onlays under different seating forces. ***J Adhes Dent*** 2006;8:327-35.
21. Holderegger C, Sailer I, Schuhmacher C, Schlapfer R, Hammerle C, Fischer J. Shear bond strength of resin cements to human

dentin. ***Dent Mater*** 2008;24:944-50.

22. Viotti RG, Kasaz A, Pena CE, Alexandre RS, Arrais CA, Reis AF. Microtensile bond strength of new self-adhesive luting agents and conventional multistep systems. ***J Prosthet Dent*** 2009;102:306-12.
23. Monticelli F, Osorio R, Mazzitelli C, Ferrari M, Toledano M. Limited decalcification/diffusion of self-adhesive cements into dentin. ***J Dent Res*** 2008;87:974-9.
24. Ibarra G, Johnson GH, Geurtsen W, Vargas MA. Microleakage of porcelain veneer restorations bonded to enamel and dentin with a new self-adhesive resin-based dental cement. ***Dent Mater*** 2007;23:218-25.
25. Mazzitelli C, Monticelli F, Toledano M, Ferrari M, Osorio R. Dentin treatment effects on the bonding performance of self-adhesive resin cements. ***Eur J Oral Sci*** 2010;118:80-6.
26. Nunes TG, Ceballos L, Osorio R, Toledano M. Spatially resolved photopolymerization kinetics and oxygen inhibition in dental adhesives. ***Biomaterials*** 2005;26:1809-17.
27. Carvalho RM, Pegoraro TA, Tay FR, Pegoraro LF, Silva NR, Pashley DH. Adhesive permeability affects coupling of resin cements that utilise self-etching primers to dentine. ***J Dent*** 2004;32:55-65.
28. Van Landuyt KL, Snauwaert J, Peumans M, De Munck J, Lambrechts P, Van Meerbeek B. The role of HEMA in one-step self-etch adhesives. ***Dent Mater*** 2008;24:1412-9.
29. Goracci C, Tavares AU, Fabianelli A, Monticelli F, Raffaelli O, Cardoso PC, *et al.* The adhesion between fiber posts and root canal walls: comparison between microtensile and push-out bond strength measurements. ***Eur J Oral Sci*** 2004;112:353-61.
30. Goracci C, Sadek FT, Fabianelli A, Tay FR, Ferrari M. Evaluation of the adhesion of fiber posts to intraradicular dentin. ***Oper Dent*** 2005;30:627-35.
31. Bitter K, Meyer-Lueckel H, Priehn K, Kanjuparambil JP, Neumann K, Kielbassa AM. Effects of luting agent and thermocycling on bond strengths to root canal dentine. ***Int Endod J*** 2006;39:809-18.
32. Bitter K, Paris S, Pfuertner C, Neumann K, Kielbassa AM. Morphological and bond strength evaluation of different resin cements to root dentin. ***Eur J Oral Sci*** 2009;117:326-33.
33. Gerth HU, Dammaschke T, Zuchner H, Schafer E. Chemical analysis and bonding reaction of RelyX Unicem and Bifix composites--a comparative study. ***Dent Mater*** 2006;22:934-41.
34. Sadek FT, Goracci C, Monticelli F, Grandini S, Cury AH, Tay F, *et al.* Immediate and 24-hour evaluation of the interfacial strengths of fiber posts. ***J Endod*** 2006;32:1174-7.
35. Costa CA, Hebling J, Hanks CT. Current status of pulp capping with dentin adhesive systems: a review. ***Dent Mater*** 2000;16:188-97.
36. Lefeuvre M, Amjaad W, Goldberg M, Stanislawski L. TEGDMA induces mitochondrial damage and oxidative stress in human gingival fibroblasts. ***Biomaterials*** 2005;26:5130-7.
37. Schweikl H, Hiller KA, Bolay C, Kreissl M, Kreismann W, Nusser A, *et al.* Cytotoxic and mutagenic effects of dental composite materials. ***Biomaterials*** 2005;26:1713-9.
38. de Souza Costa CA, Hebling J, Randall RC. Human pulp response to resin cements used to bond inlay restorations. ***Dent Mater*** 2006;22:954-62.

Case Report

Non-Surgical and Non-Extraction Treatment of a Severe Skeletal Class III Deep Bite Patient

Supachai Lertnimulchai[1] and Keith Godfrey[2]

[1]Private orthodontist, Amphoe Mueang, Nong Khai, Thailand

[2]Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphoe Mueang, Khon Kaen, Thailand

Correspondence to:

Supachai Lertnimulchai, Private orthodontist, 1074 Janejobtid Road, Amphoe Mueang, Nong Khai, 43000 Thailand Tel: 042-420951

E-mail: k.supachai.l@gmail.com

Abstract

This case report describes the orthodontic treatment of a young adult Thai male aged 17 years 9 months with a severe skeletal Class III malocclusion, negative incisor overjet substantial mandibular anterior shift, maxillary incisor crowding, and deep overbite. Treatment was only orthodontics without extraction. Self-ligating appliances combined with removable posterior bite-raiser, Class III and triangular Class III intermaxillary elastics were used. The active treatment required 27 visits unavoidably spread over 58 months. Achieving positive overjet together with maxillary incisor alignment enabled correction of the anterior functional displacement of the mandible, also allowing a more stable Class I dental occlusion and significant improvement of facial profile. For more than three years post-treatment, the occlusion has remained stable with no signs or symptoms of temporomandibular disturbance.

Key words: CO-CR discrepancy; Non-surgical orthodontics; Posterior bite-raiser; Severe Class III deepbite; Triangular Class III intermaxillary elastics

Received Date: Sept 15, 2014, Accepted Date: Oct 31, 2014

Introduction

As with all Angle classes of malocclusion, Class III malocclusion occurs in a wide range of dento-skeletal types. The skeletal types such as represented by a straight to concave facial profile, often a prognathic mandible and/or retrusive maxilla, a prominent lower third of the face and a reverse incisor overjet, present special problems in their correction particularly among older adolescents and adults.[1-4] The influence of environmental factors and oral function on the etiology of a Class III malocclusion is not understood. Orthodontists are satisfied to proceed with correction of Class III malocclusions without pursuing the so far insoluble question of the nature of gene-environment interactions when considering the etiology of malocclusion other than its various ethnic associations. Among Thai orthodontic patients the prevalence is 13.2 %.[5]

Mild skeletal Class III malocclusions can be corrected orthodontically.[2,6] For severe skeletal Class III malocclusions, orthodontics combined with orthognathic surgery is often required.[2,6,7] Various treatment protocols have been proposed to camouflage mild to moderate skeletal Class III malocclusions, including fixed appliances with Class III intermaxillary elastics,[7-22] and some incorporating Multiloop Edgewise Archwire Technique (MEAW),[7,8] maxillary protraction appliance[7], J-hook headgear to the mandibular arch,[9] chincup,[10] and Temporary Anchorage Devices (TADs).[7,11,12] Extraction of teeth is often a part of treatment plans for adult patients, such as one mandibular incisor, mandibular premolars, sometimes also maxillary premolars, and including a surprising frequency of reports recommending extraction of mandibular first or second molars.[7,13-19] Reports of camouflage correction for adults with skeletal Class III malocclusion without extractions are difficult to find,[20-22] contrasting with reports of adults being treated with a range of extraction protocols.

Class III malocclusion presents dental and skeletal discrepancies even at early age, and it may become worse with continuing growth.[23] The timing for camouflage orthodontics in Class III should take into account of the pattern of prolonged mandibular growth, duration of retention, and timing for the evaluation of stability resulting from the treatment protocol.

It is common clinical experience that the characteristic anterior crossbite of both dental and skeletal Class III malocclusions is frequently associated with anterior functional mandibular shift, often referred to Centric Occlusion-Centric Relation (CO-CR) discrepancy. Thus, this feature is important in differential diagnosis of anterior crossbite for orthodontic treatment planning of all Class III malocclusions and assessment of treatment outcomes.[7,10,22,24,25]

The purpose of this case report is to present a young adult male with a severe skeletal Class III malocclusion and deep overbite treated with self-ligating appliances, removable posterior bite-raiser, Class III and triangular Class III intermaxillary elastics to correct a functional mandibular anterior displacement along with dentoalveolar compensation of anterior teeth to camouflage the severe skeletal Class III deep bite malocclusion.

Diagnosis and etiology

An adult Thai male aged 17 years 9 months presented for an orthodontics consultation. His chief complaint was dissatisfaction with his maxillary anterior teeth being behind the mandibular incisors and required to have better chewing and biting ability. He had previously consulted six orthodontists who advised him to have orthodontics combined with orthognathic surgery, but he denied any surgery.

The extra-oral examination (Fig. 1) showed that he had a symmetrical mesofacial type and slightly concave profile. Paranasal areas were flat. Lips were competent at rest. On smiling, 70 % of his maxillary incisor crowns were displayed. The intra-oral examination (Fig. 1) found an anterior crossbite of all maxillary incisors with negative overjet 7 mm and positive overbite 5 mm. His mandibular dental midline was deviated to the right-hand side 1 mm. Canine and molar relationships

were extreme Class III on both sides. The patient's functional examination showed 5 mm of CO-CR discrepancy with almost edge-to-edge contact of his anterior teeth in maximally retruded CR. There was no lateral functional shift and no symptoms of temporomandibular disorders. The patient was in good general health and had no history of systemic diseases.

Both maxillary and mandibular dental arches had symmetrical ovoid arch forms. The depth of the curve of Spee was 4 mm on both sides. The posterior occlusions were not well-seated and there was incomplete occlusion of the premolars on the left-hand side. The maxillary incisors had 2 mm of crowding. Bolton's analysis indicated no tooth size discrepancy.

The panoramic radiograph (Fig. 2) showed all teeth were present, except maxillary third molars. The mandibular third molars were developing. There were no supernumerary teeth. The crown-root ratios were normal with good alveolar bone levels, no bone pathology, and nasal floor and maxillary sinuses appeared normal.

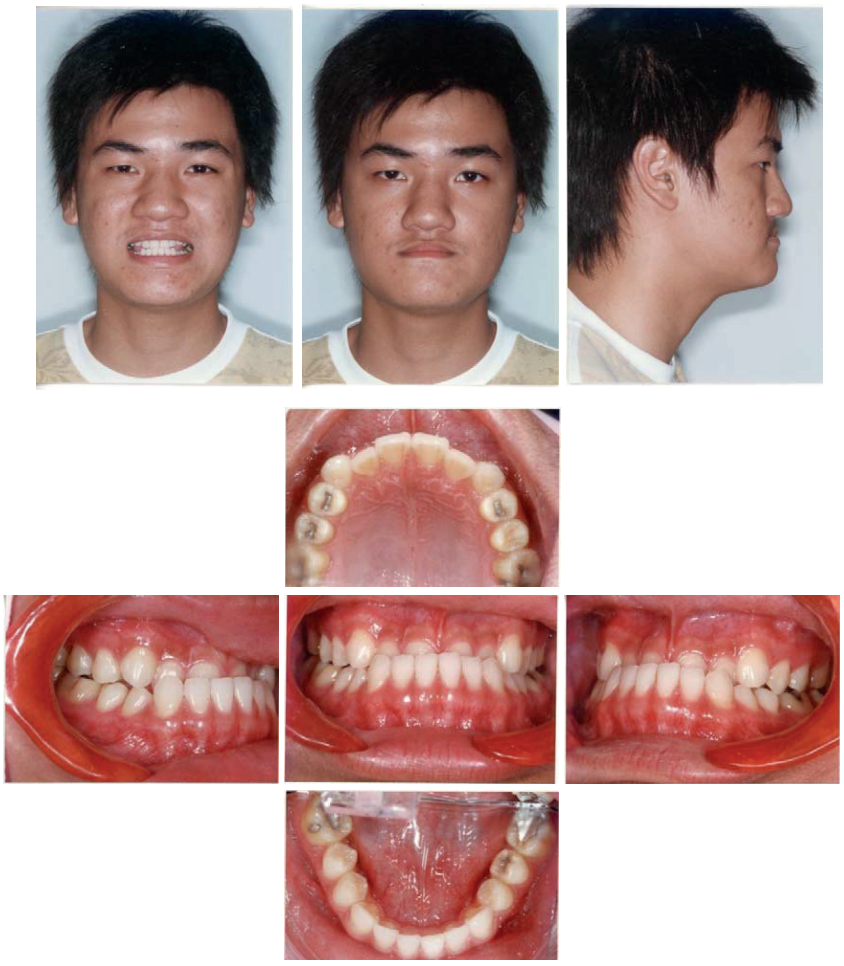


Figure 1 *Pre-treatment facial and intra-oral photographs*

The lateral cephalometric analysis in CO position indicated a severe Class III skeletal jaw relationship (ANB, -13°) with retrognathic maxilla (SNA, 78°) and prognathic mandible (SNB, 91° and SN-Pog, 93°). Both ANB and SNB measurements were accentuated by the CO-CR discrepancy. Facial Height Index (N-ANS:ANS-Me = 80 %) indicated decreased lower facial height. The maxillary incisors were labially proclined (U1-NA, 40°, U1-SN, 121°) with a lingual inclination of the mandibular incisors (IMPA, 80°) and an interincisor angle of 143°. His profile

was slightly concave (H-angle, 4°) and short upper lip (UL-Length, 18 mm) with retrusion of upper and lower lips (Fig. 3A and Table 1). The lateral cephalometric analysis in CR position showed mild prognathic profile (Fig. 3B).

The patient was diagnosed as a severe skeletal Class III deepbite with retrognathic maxilla and prognathic mandible and 5 mm of CO-CR discrepancy. His Class III malocclusion was primarily associated with the skeletal discrepancies combining retrognathic maxilla and prognathic mandible, accentuated by the functional anterior displacement of the mandible. None of his family members had skeletal Class III, but his mother mentioned that her son had an anterior crossbite of his primary dentition.

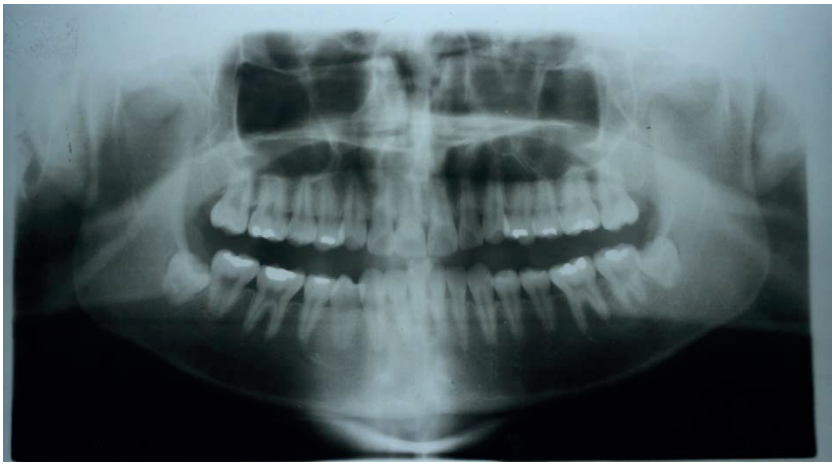
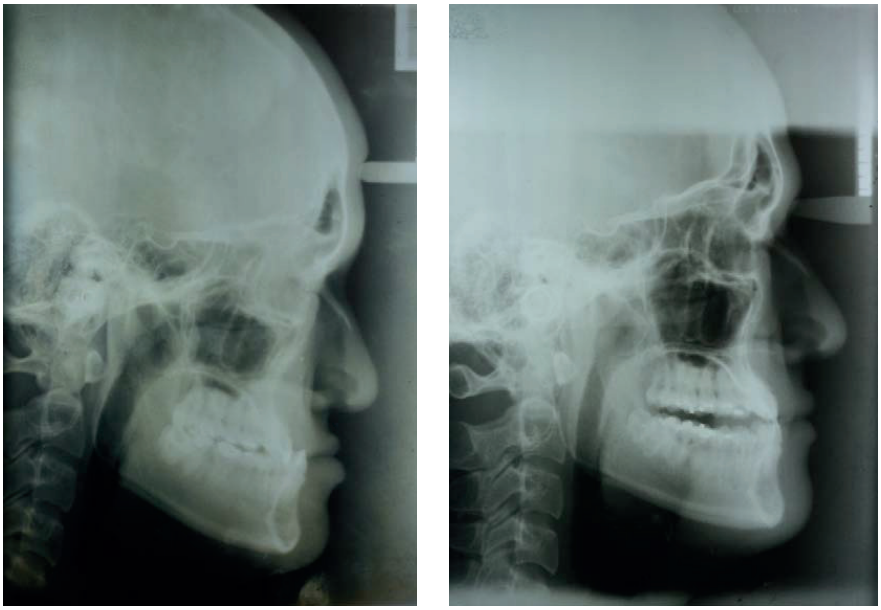


Figure 2 *Pre-treatment panoramic radiograph*



A **B**

Figure 3 *Pre-treatment lateral cephalometric radiograph*

A. Cephalometric CO position

B. Cephalometric CR position

Table 1 *Cephalometric measurements*

Measurements	Pre-treatment	Post-treatment
SNA (degree)	78.0	78.0
SNB (degree)	91.0	90.0
SN-Pog (degree)	93.0	92.0
ANB (degree)	-13.0	-12.0
SN-MP (degree)	15.0	17.0
U1 to L1 (degree)	143.0	144.0
U1 to NA (degree)	40.0	55.0
U1 to SN (degree)	121.0	136.5
IMPA (degree)	80.0	70.0
Facial height index (%)	80.0	76.0
Nasolabial angle (degree)	86.0	87.0
H-angle (degree)	4.0	6.0
UL length (mm)	18.0	21.0
UL-EP (mm)	-6.5	-7.0
LL-EP (mm)	-2.5	-3.5

Treatment objectives

The treatment objectives were to 1) correct the anterior crossbite and establish normal incisor relationships with good positive overbite, 2) achieve Class I molar and canine relationships, 3) correct CO-CR discrepancy, 4) reduce the deep curve of Spee, 5) correct the mandibular midline deviation, 6) correct the left side of incomplete occlusion of the premolars, and 7) improve facial profile.

Treatment alternative

Possible benefit of ideal orthodontics with surgery previously explained and offered had been rejected by the patient. Therefore, treatment by orthodontic camouflage was considered and presented to the patient on his understanding that correction to his full satisfaction could not be guaranteed. The first camouflage alternative consisted of conservative orthodontic treatment without extractions – even though there was maxillary anterior crowding – and to retract the mandibular incisors and dental arch. The treatment would be made with fixed labial appliances, removable posterior bite-raiser, and initial Class III and subsequent triangular Class III intermaxillary elastics to correct the maxillary anterior crowding and anterior crossbite. This camouflage approach would produce dento-alveolar compensations through more labially proclined maxillary incisors and more lingually retroclined mandibular incisors, as well as correcting the CO-CR discrepancy and establishing together with maintaining positive anterior overjet and overbite.

It was explained to the patient that the above treatment plan without extraction might not be successful because of difficulties in full correction of the anterior crossbite and because of the large skeletal Class III problem. Any difficulty should become apparent within six months of the start of treatment using the non-extraction approach. In this event, an extraction alternative would be considered while in other respects treatment would continue as described before. At the same time, the patient was informed that going to his

undesired surgical option might also need to be considered before deciding on camouflage with extractions. The treatment protocol needed excellent patient compliance.

The patient accepted the advice to commence with non-extraction camouflage orthodontic treatment with fixed appliances and Class III intermaxillary elastics, with initial use of a mandibular bite-raiser.

Treatment progress

The treatment was initiated using 0.022-inch self-ligating maxillary appliances (Damon 3MX) combined with mandibular removable posterior bite-raiser (Fig. 4). The bite registration of posterior bite-raiser was recorded in centric relation position using Dawson's technique.[26]

Figure 4 *Initial treatment; fixed appliance in maxillary combined with removable posterior bite-raiser in mandible*

In the first stage of treatment lasting four months, the maxillary incisors were levelled and aligned with a nickel-titanium archwire. A 0.016 x 0.025-inch stainless steel archwire with active molar-stop loops and Class III intermaxillary elastics were then used from maxillary molars to modified U-loops of the labial bow of the removable posterior bite-raiser. Three months later, the anterior crossbite was corrected. Temporary posterior openbite occurred with only anterior contacts when the patient stopped using the posterior bite-raiser. In preparation for correction of this posterior openbite, self-ligating attachments were bonded to the mandibular teeth. The maxillary arch wire was changed to 0.019 x 0.025-inch stainless steel to provide intermaxillary anchorage for levelling of the curve of Spee through extrusion of the mandibular posterior teeth with intermaxillary Class III triangular elastics. This extrusion was completed with a sequence of archwires from 0.014-inch copper nickel-titanium to 0.019 x 0.025-inch stainless steel during a further 12 months of treatment. During this time treatment continued with further consolidation of incisor overjet with increased overbite, along with establishment of Class I buccal occlusions.

At 34 months into treatment, the patient was sent to remove the impacted mandibular third molars due to pericoronitis.

Throughout treatment, the patient gave excellent compliance with use of the removable posterior bite-raiser, Class III and triangular Class III intermaxillary elastic tractions. The total time that the appliances were in place was 58 months which was long because the patient could not attend regularly while studying in another city. However, he had only 27 visits from start to completion of treatment. After treatment, maxillary and mandibular invisible retainers were made and used full-time for one year and then at night only.

Treatment results

The patient and his mother were satisfied with the treatment results. The immediate post-treatment extra-oral photographs (Fig. 5) show significant improvement with change from the slightly concave to a straighter and more vertically balanced profile. The post-treatment intra-oral photographs (Fig. 5) show satisfactory dental alignment, Class I canine and molar relationships, well-seated posterior occlusion, overjet and overbite of 2 mm, and only a minor center line discrepancy. Periodontal health was excellent with mild root resorption (Fig. 6). Superimposed pretreatment, and post-treatment cephalometric tracings (Fig. 7A, B and C, and Table 1), the maxillary incisors tipped labially with slightly forward movement of maxillary molars. The mandibular incisors tipped lingually and there was extrusion of mandibular molars and the premolars that followed the open bite after the completion of the first phase of treatment. This also corrected the deep curve of Spee. The concave profile was improved with an increase in the H-angle from 4° to 6° and an increase in upper lip length from 18 mm to 21 mm. There were mandibular changes: Menton moved down 4 mm, SNB and SN-Pog angle decreased from 91° to 90° and 93° to 92° respectively, mandibular plane angle increased from 15° to 17°, indicating backward and downward rotation of the mandible, and ramus height (Ar-Go) increased from 63 mm to 64.5 mm with Facial Height Index decreased from 80 % to 76 % indicating increased lower facial height. There was 2 mm incisor overbite when appliances were removed.

Figure 5 *Post-treatment facial and intra-oral photographs*

The three years follow-up examination (Fig. 8) found a still well-balanced soft tissue profile. His cephalometric measurements matched those at the end of treatment. The occlusion remained stable, with normal overjet and overbite. His periodontal health was still excellent and no further root resorption was detected (Fig. 9). There were no signs or symptoms of any temporomandibular disorders during the treatment and retention periods. The patient wanted to use retainers at night only for another year.

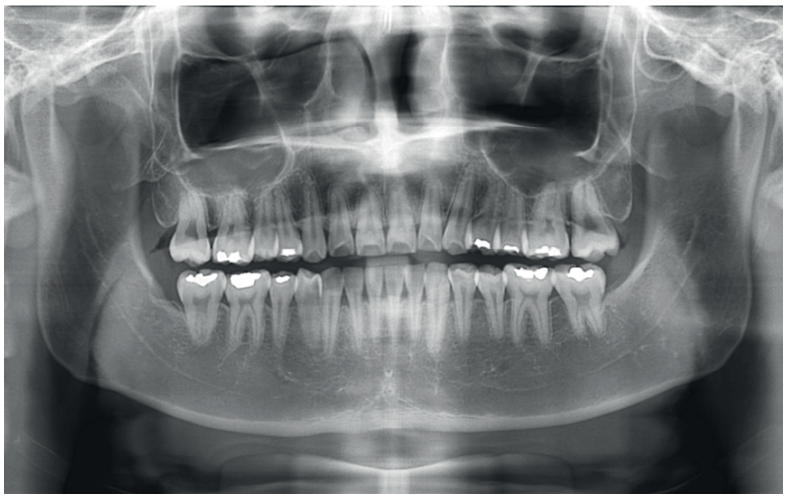


Figure 6 *Post-treatment panoramic radiograph*

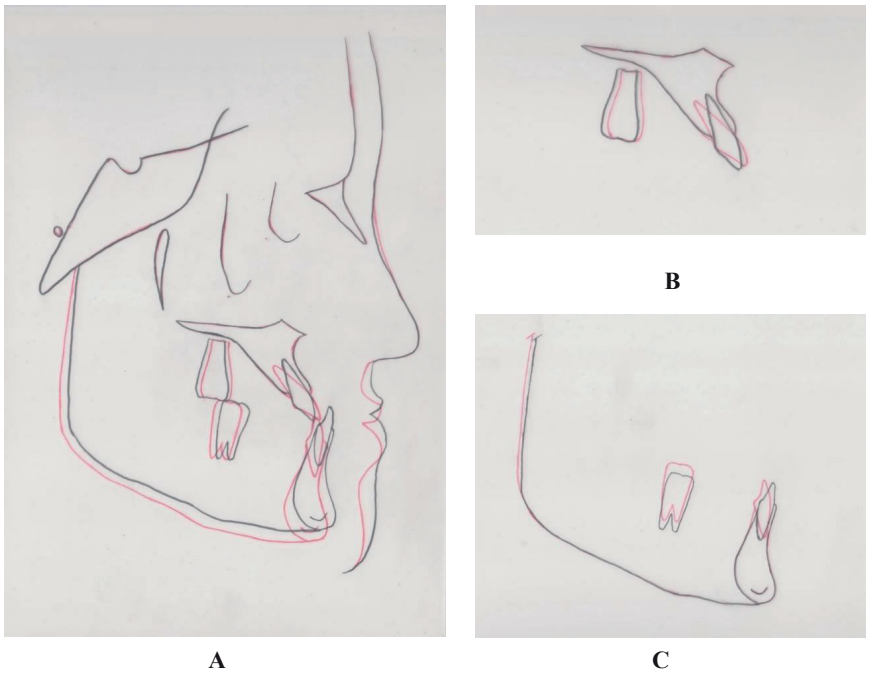


Figure 7 *Superimpositions of pre-treatment (black line)*
Post-treatment (red line)
A. Cranial base superimposition
B. Superimposition on the maxilla
C. Superimposition of the mandible

Figure 8 *Facial and intra-oral photographs three years after treatment*

Figure 9 *Panoramic radiograph three years after treatment*

Discussion

Although, the ideal treatment for severe adult Class III must be orthodontics combined with orthognathic surgery, a few cases of non-extraction camouflage of severe Class III with long-term stable outcomes have been reported.[20-22]

As already noted, the patient in the present case report had previously been diagnosed as an orthognathic surgery case by several orthodontists. His dento-skeletal appearance of mandibular prognathism and maxillary incisor crowding would have encouraged them to advise surgical correction rather than camouflage orthodontics. For the severe skeletal Class III patients with CO-CR discrepancy, profile at CR position can be used to predict the prognosis.[27] If the CR profile is orthognathic, it suggests a good prognosis. In case of minor degree of prognathism, camouflage orthodontics may be an acceptable compromised treatment but with increasing dental compensation.[27]

The deficiencies of antero-posterior and vertical development of the maxilla presented significant problems for camouflage correction. However, the expectation of substantial improvement to overall facial profile by mandibular retraction from the CO position and opening rotation to correct obvious overclosure and related large incisor overbite offered some encouragement to try camouflage correction. This could answer the patient's several concerns although at the same time it was necessary to warn him of difficulties in following this conservative approach.

Repositioning splints therapy can alter condylar position at occlusal contact, so aiding correction of habitual anterior displacement of the mandible.[10,21] There is no question as to whether or not this patient's mandibular condyles should be positioned in the mythical "relaxed and normal" positions in their respective fossae that clinicians are required to achieve.[28] Necessarily his mandibular occlusal contact position is now maximally retruded, being constrained by the corrected incisor crossbite. Throughout his period of attendance at the clinic, the patient has never shown signs or identified symptoms of temporomandibular joint disturbances. A report of a meta-analysis also indicated that the conventional orthodontic treatments do not increase the prevalence of temporomandibular disorders.[29]

Application of Class III intermaxillary elastics may result in maxillary molar extrusion.[30] In the first phase of treatment, Class III intermaxillary elastics combined with removable posterior bite-raiser was applied for correction of the anterior crossbite. The extrusion of the maxillary molars was controlled with use of the bite- raiser and the stiff maxillary rectangular archwire.[30]

The mechanics of tooth movement were fixed labial appliances, removable posterior bite-raiser, and Class III intermaxillary elastics to camouflage the severe Class III malocclusion. As the results show, this protocol produced labial tipping of maxillary incisors with slight forward movement of maxillary molars; the mandibular incisors were tipped lingually and there was extrusion of mandibular molars and premolars. The removal of impacted mandibular third molars in the latter part of treatment, would facilitate some tipping back of the mandibular dentition due to the effect on Class III elastics.

The satisfactory occlusion, well-balanced facial proportions, and better upper lip profile were the results of small increases to pre-existing dentoalveolar compensations, which improved mid-facial height with small opening rotation of the mandible.[2]

At three years post-treatment, positive overbite and better maxillo-mandibular skeletal relationships (Fig. 8) were very important for prevention of relapse of occlusal relationships and return of mandibular functional protrusion.[10]

For severe skeletal Class III malocclusions, orthodontics combined with orthognathic surgery can completely change concave facial profile.[2] This patient, with a severe skeletal Class III deepbite, was successfully treated orthodontically without extractions, and has a significant improvement of facial profile.

The continuing stability of the correction could also be attributed in part to the exceptionally long period of 58 months of wearing the appliances due to unavoidable irregular clinic attendances. This extended use of the fixed appliances provided a useful form of fixed retention. However, long term follow up of this case is needed to check for relapse of the incisor relationship and any residual apical resorption of the incisor teeth.

An important note about extraction alternatives for non-surgical correction of skeletal Class III malocclusions

The non-extraction alternative is preferable to extractions in many cases where camouflage correction is being considered. As the patient was warned at the start, experience has shown that lack of expected orthodontic improvement will be apparent within the first six months. In such a situation it may be advisable then to reconsider whether or not to continue further compromise with one of several extraction options. A multiple premolar extraction option without surgery carries an important risk of problems if it also fails to assist orthodontic correction. Baik illustrated such a case of a patient who had camouflage treatment of a Class III malocclusion, including four premolars extraction. There was return to Class III malocclusion attributable to "late mandibular growth" that necessitated recourse to two-jaw surgery.[7] Multiple extractions with failed attempt at camouflage correction can create significant difficulty if the orthodontist (and patient) is then faced with transferring to an orthodontic-orthognathic surgery approach. In such circumstances, the significant problem in achieving a desired treatment outcome would be difficulty in reversing (i.e., decompensating for) any failed camouflage of Class III incisor relationships using a multiple extraction option, while also preventing space openings where there had been extractions.

Conclusion

This severe Class III deepbite was successfully treated non-surgically by orthodontics only and without extractions. The success of orthodontics only avoids the risks and complications of surgery with less financial costs for the patient and his mother.

Fixed appliance with removable posterior bite-raiser and Class III elastics followed by Class III triangular elastics effectively tipped maxillary incisors labially and the mandibular incisors lingually to correct the patient's anterior crossbite, and related CO-CR discrepancy, and to close a transient posterior open bite while retaining positive incisor overbite, so camouflaging this severe skeletal Class III.

This camouflage protocol produced a significant improvement of facial profile, a slightly concave facial profile changing to straight facial profile with underlying skeletal disturbances.

Stability of correction over the three-year follow-up period could be attributable to the extended period of maintenance of fixed appliances acting partly as fixed retention, and to retention of positive incisor overbite. For long-term stability, prolonged wearing retainers are recommended.

A significant factor in the success of the camouflage treatment and post-treatment outcome was the excellent patient compliance.

Acknowledgement

The authors are grateful to Dr. Rewadee Lertnimulchai and Mr. Chavit Lertnimulchai who helped to prepare this manuscript. (This case report was presented for Thai Orthodontic Board examination on 3rd June 2013.)

References

1. Delaire J. Maxillary development revisited: relevance to the orthopaedic treatment of Class III malocclusions. ***Eur J Orthod*** 1997;19:289-311.
2. Proffit WR. Contemporary orthodontics. 3rd ed. St.Louis: Mosby; 2000. p. 276-81.
3. Spalj S, Mestrovic S, Lapter Varga M, Slaj M. Skeletal components of Class III malocclusions and compensation mechanisms. ***J Oral Rehabil*** 2008;35:629-37.
4. Staudt CB, Kiliaridis S. Different skeletal types underlying Class III malocclusion in a random population. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2009;136:715-21.
5. Kositbowornchai S, Keinprasit C, Poomat N. Prevalence and distribution of dental anomalies in pretreatment orthodontic Thai patients. ***KDJ*** 2010;13:92-100.
6. McIntyre GT. Treatment planning in Class III malocclusion. ***Dent Update*** 2004;31:13-20.
7. Baik HS. Limitations in orthopedic and camouflage treatment for Class III malocclusion. ***Semin Orthod*** 2007;13:158-74.
8. Kim YH, Han UK. The versatility and effectiveness of the multiloop edgewise archwire. ***World J Orthod*** 2001;2:208-18.
9. Kuroda Y, Kuroda S, Alexander RG, Tanaka E. Adult Class III treatment using J-hook headgear to the mandibular arch. ***Angle Orthod*** 2010;80:336-43.
10. Ferro A, Nucci LP, Ferro F, Gallo. Long-term stability of skeletal Class III patients treated with splints, Class III elastics and chincup. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2003;123:423-34.
11. Baek SH, Yang IH, Kim KW, Ahn HW. Treatment of Class III malocclusions using miniplate and mini-implant anchorage. ***Semin Orthod*** 2011;17:98-107.
12. Chung KR, Kim SH, Choo H. Class III correction using biocreative therapy (C-Therapy). ***Semin Orthod*** 2011;17:108-123.
13. Færøvig E, Zachrisson BU. Effects of mandibular incisor extraction on anterior occlusion in adults with Class III malocclusion and reduced overbite. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 1999;115:113-24.
14. Daher W, Caron J, Wechsler MH. Non-surgical treatment of an adult with a Class III malocclusion. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2007;132:243-51.
15. Moullas AT, Palomo JM, Gass JR, Amberman BD, White J, Gustovich D. Non-surgical treatment of a patient with a Class III malocclusion. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2006;129:S111-8.
16. Wangsrimongkol T, Manosudprasit M, Pisek P, Leelasinjaroen P. Correction of complete maxillary crossbite with severe crowding using Hyrax expansion and fixed appliance. ***J Med Assoc Thai*** 2013;96:S149-56.
17. Fukui T, Harada F, Morita S, Saito I. Non-surgical treatment of adult skeletal Class III malocclusion with crowding and missing four premolars corrected with extraction of mandibular first molars. ***Orthod Waves*** 2012;71:31-8.
18. Ruellas AC, Baratieri C, Roma MB, Izquierdo Ade M, Boaventura L, Rodrigues CS, *et al*. Angle Class III malocclusion treated with mandibular first molar extractions. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2012;142:384-92.
19. Lin J, Gu Y. Lower second molar extraction in correction of severe skeletal Class III malocclusion. ***Angle Orthod*** 2006;76:217-25.
20. Kondo E, Arai S. Non-surgical and nonextraction treatment of a skeletal Class III adult patient with severe prognathic mandible. ***World J Orthod*** 2005;6:233-47.
21. Lowenhaupt EB. Compromised Non-surgical treatment of a patient with a severe Class III malocclusion. ***International Dentistry SA*** 2009;11:52-61.
22. Gelgör IE, Karaman AI. Non-surgical treatment of Class III malocclusion in adults: two case reports. ***J Orthod*** 2005;32:89-97.
23. Guyer EC, Ellis EE 3rd, McNamara JA Jr, Behrents RG. Components of Class III malocclusion in juveniles and adolescents. ***Angle Orthod*** 1986;56:7-30.
24. Ngan P, Hu AM, Fields HW Jr. Treatment of Class III problems begins with differential diagnosis of anterior crossbites. ***Pediatr Dent*** 1997;19:386-95.
25. Cho JY, Lee YJ, Park YG, Chung KR. Relationship between CO-CR discrepancy and facial skeletal type. ***Korean J Orthod*** 1998;28:839-53.
26. Dawson PE. Evaluation, diagnosis, and treatment of occlusal problem. 1St ed. St. Louis: Mosby; 1989. p. 41-7.
27. Lin JJ. Creative orthodontic: Blending the Damon system & TADs to manage difficult malocclusion. 1st ed. Taipei: Taiwan; 2007. p. 44-57.

28. Rinchuse DJ, Kandasamy S. Myths of orthodontic gnathology. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2009;136:322-30.
29. Kim MR, Graber TM, Viana MA. Orthodontics and temporomandibular disorder: a meta-analysis. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2002;121:438-46.
30. Miyajima K, Iizuka T. Treatment mechanics in Class III open bite malocclusion in Tip Edge technique. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 1996;110:1-7.

Original Article

In Vitro Efficacy of Disinfectants Used in Dental Clinic

Kalyarat Patumraj[1], Chavirakarn Manpibool[1], Chutikan Juengprasitporn[1], Wanpen Sinheng[2] and Ruchanee Ampornaramveth[2]

[1]Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

[2] DRU on Oral Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Correspondence to:

Ruchanee Ampornaramveth. DRU on Oral Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University Henry-Dunant Rd., Pathum Wan, Bangkok 10330 Thailand Tel: 02-2188683 Fax: 02-2188680 Email: ruchanee@gmail.com

Abstract

The objective of this study is to investigate the efficacy and verify the shelf-life after the preparation to working concentration of disinfectants used in dental clinic. Three standard bacterial strains: *Staphylococus aureus;* ATCC 25929, *Salmonella typhimurium;* ATCC 14028 and *Bacillus subtilis;* ATCC 6633 were chosen to test seven disinfectants: ethanol, sodium hypochlorite (NaOCl), glutaraldehyde (CIDEX®), iodophore (POSE®), modern combination of Quaternary Ammonium Compound (QAC) and alkyl-propylene-diamine-guanidine (Alpro®BIB forte), chlorhexidine-gluconate (Chx), combination of isopropryl-alcohol and dual-QAC (Umonium®). Micro-dilution assay was used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of each disinfectant. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was determined by spread-plating method. Potency of various shelf-life after the preparation of the disinfectants was also tested. All of the disinfectants tested, except ethanol, were effective against all three bacterial strains at Working Concentration (WC). Umonium®, Alpro® BIB forte, glutaraldehyde, and Chx at every concentration tested (2WC, WC, WC/2, WC/4 and WC/8) were effective against three strains of bacteria, whereas iodophore and NaOCl were less effective against *S. typhimurium* and *B. subtilis.* Surprisingly, ethanol was not effective at all concentrations against *B. subtilis.* After the preparation to WC, all of the disinfectants retained their potency up to 4 weeks against *S. typhimurium* and *S. aureus.* Whatever the shelf-life is ethanol was not at all effective against *B. subtilis.* In conclusion, MIC and MBC of Umonium®, Chx, Alpro®BIB forte and glutaraldehyde against three bacterial strains are less than or equivalent to 1/8 WC. Ethanol was not effective at all to *B. subtilis.* Iodophore and sodium hypochlorite were less effective in diluted form. All of the disinfectants except ethanol, if keep in close container, retained its potency up to 4 weeks after the preparation to WC.

Key words: Dental clinic; Disinfectants; Infection control

Received Date: Sept 4, 2014, Accepted Date: Nov 7, 2014

บทวิทยาการ

ประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีใช้ในคลินิกทันตกรรมในห้องปฏิบัติการ

กัลยารัตน์ ปทุมราช[1], ชวิรกาญ แม้นพิบูลย์[1], ชุติกาญจน์ จึงประสิทธิ์พร[1], วันเพ็ญ ซินเฮง[2] และรัชนี อัมพรอร่ามเวทย์[2]

[1]คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพ

[2]โครงการพัฒนาหน่วยวิจัยจุลชีววิทยาช่องปาก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

รัชนี อัมพรอร่ามเวทย์ โครงการพัฒนาหน่วยวิจัยจุลชีววิทยาช่องปาก ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์: 02-2188683 โทรสาร: 02-2188680 อีเมล์: ruchanee@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพ และอายุการใช้งานหลังผสมของน้ำยาฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ในคลินิกทันตกรรมกับเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus;* ATCC 25929) แซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม (*Salmonella typhimurium;* ATCC 14028) และเบซิลลัส ซับทีลิส (*Bacillus subtilis;* ATCC 6633) ถูกนำมาทดสอบกับน้ำยาฆ่าเชื้อ 7 ชนิด ได้แก่ เอทานอล, โซเดียมไฮโปคลอไรต์, กลูตารัลดีไฮด์ (CIDEX®), ไอโอโดฟอร์ (POSE®), อัลโปรบีไอบีฟอร์เต้ (Alpro® BIB forte), ยูโมเนียม (Umonium®) และคลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนต โดยใช้วิธีไมโครไดลูชันในการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ใช้วิธีสเปรดเพลทในการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ และทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อหลังผสมเมื่อถูกเก็บในระยะเวลาที่แตกต่างกัน เมื่อผสมน้ำยาที่ความเข้มข้นใช้งาน น้ำยาฆ่าเชื้อทุกชนิด ยกเว้นเอทานอล มีประสิทธิภาพต่อเชื้อทั้ง 3 ชนิด ยูโมเนียม, คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนต, อัลโปรบีไอบีฟอร์เต้ และกลูตารัลดีไฮด์ ในทุกความเข้มข้นที่ทดลองคือ ที่ความเข้มข้นสองเท่าของความเข้มข้นใช้งาน (2W), ความเข้มข้นใช้งาน (W), เจือจาง 2 เท่า (W/2), เจือจาง 4 เท่า (W/4) และเจือจาง 8 เท่า (W/8) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทั้งสามชนิดที่ทำการทดสอบได้ ในขณะที่ ไอโอโดฟอร์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ เมื่อถูกเจือจางจะมีประสิทธิภาพลดลงต่อเชื้อแซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม และเบซิลลัส ซับทีลิส ส่วนเอทานอลนั้น ไม่มีประสิทธิภาพเลยต่อเชื้อเบซิลลัส ซับทีลิส ในทุก ๆ ความเข้มข้นที่ทดสอบ และเมื่อผสมน้ำยาที่ความเข้มข้นใช้งานทิ้งไว้ในภาชนะปิด น้ำยาฆ่าเชื้อทุกชนิด ยกเว้นเอทานอล สามารถคงประสิทธิภาพไว้ได้นานถึง 4 สัปดาห์ โดยสรุป ยูโมเนียม, คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนต, อัลโปรบีไอบีฟอร์เต้ และกลูตารัลดีไฮด์ มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง และฆ่าเชื้อทั้งสามชนิดที่นำมาทดสอบได้ที่ระดับเจือจางมากกว่า หรือเท่ากับความเข้มข้นที่ 8 เท่าของความเข้มข้นใช้งาน เอทานอลไม่มีประสิทธิภาพต่อเชื้อเบซิลลัส ซับทีลิส, ไอโอโดฟอร์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ มีประสิทธิภาพลดลงเมื่อถูกเจือจาง และน้ำยาฆ่าเชื้อทุกชนิดเมื่อถูกเก็บไว้ในภาชนะปิดสามารถคงประสิทธิภาพไว้ได้นานถึง 4 สัปดาห์

คำสำคัญ: คลินิกทันตกรรม; น้ำยาฆ่าเชื้อ; การควบคุมการติดเชื้อ

บทนำ

ในการทำงานทางทันตกรรมนั้นหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่จะมีการปนเปื้อนน้ำลาย เลือด และสารคัดหลั่งอยู่เสมอ ขั้นตอนการฆ่าเชื้อจึงมีความสำคัญเพื่อป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ การใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ (disinfectants) เป็นวิธีการลดจำนวนเชื้ออย่างหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย กรมป้องกันและควบคุมโรคของประเทศสหรัฐอเมริกา (Centers for Disease Control and Prevention (CDC)) ได้แบ่งประเภทของน้ำยาฆ่าเชื้อตามคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อต่าง ๆ ไว้ 3 ระดับคือ น้ำยาฆ่าเชื้อระดับต่ำ (low-level disinfectant) น้ำยาฆ่าเชื้อระดับกลาง (intermediate-level disinfectant) และน้ำยาฆ่าเชื้อระดับสูง (high-level disinfectant)[1] โดยน้ำยาฆ่าเชื้อที่สมาคมทันตแพทย์แห่งสหรัฐอเมริกา (American Dental Association (ADA)) แนะนำให้ใช้กับเครื่องมือทันตกรรมได้แก่ น้ำยาฆ่าเชื้อในระดับกลางขึ้นไป[2]

ในการทดสอบคุณสมบัติของน้ำยาฆ่าเชื้อที่นำมาใช้ในสถานพยาบาลนั้น หน่วยงานด้านการป้องกันสิ่งแวดล้อม (Environmental Protection Agency (EPA)) และสมาคมวิเคราะห์คุณภาพของสหรัฐอเมริกา (Association of Analytical Communities (AOAC)) ได้กำหนดว่า น้ำยาฆ่าเชื้อที่ได้มาตรฐานนั้นควรจะฆ่าเชื้อเหล่านี้ได้ ได้แก่ สแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) แซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม (*Salmonella typhimurium*) และซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*)[3,4] นอกจากนี้ ฤทธิ์ในการทำลายสปอร์ของแบคทีเรียยังเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีถึงประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้ออีกด้วย

ถึงแม้กรมป้องกันและควบคุมโรคของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แบ่งน้ำยาฆ่าเชื้อเป็นสามระดับตามประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อดังที่ได้กล่าวไปแล้ว แต่การแบ่งดังกล่าวเป็นเพียงการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละตัวแยกกัน ไม่ได้มีการนำมาเปรียบเทียบกันระหว่างผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ในปัจจุบันมีน้ำยาฆ่าเชื้อหลายชนิดจากหลายบริษัท ซึ่งมีประสิทธิภาพ และราคาแตกต่างกัน ทำให้ยากแก่การตัดสินใจในการนำมาใช้ของทันตแพทย์

จากการศึกษาที่ผ่านมามีผู้วิจัยหลายคณะได้พยายามเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อ จากรายงานของ William AR และคณะ[6] ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อในการฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ สรุปได้ว่า ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก เอทานอล, คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนต, สารประกอบไอโอดีน และสารอนุพันธ์ของฟีนอล สามารถทำลายเชื้อได้ดีเยี่ยม ส่วนฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบ เอทานอล และสารประกอบไอโอดีนสามารถฆ่าเชื้อได้อย่างดีเยี่ยม ในขณะที่คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนตสามารถฆ่าเชื้อได้ดี ส่วนสารอนุพันธ์ของฟีนอลสามารถฆ่าเชื้อได้พอประมาณ ส่วนในแง่ของความเร็วในการฆ่าเชื้อเอทานอลสามารถออกฤทธิ์ได้เร็ว ส่วนน้ำยาคลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนต สารประกอบไอโอดีน และสารอนุพันธ์ของฟีนอลออกฤทธิ์เร็วในระดับปานกลาง

จากงานวิจัยของ Arirachakaran P และคณะ[7] ได้ทดสอบฤทธิ์ของน้ำยาฆ่าเชื้อในการทำลายสปอร์ของเชื้อเบซิลัส อโทรเพียส (*Bacillus atropheas*) และจีโอเบซิลัส สตีโรเทอร์โมฟิลัส (*Geobacillus stearothermophilus*) รวมถึงฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส, แซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม และซูโดโมนาส แอรูจิโนซา โดยน้ำยาฆ่าเชื้อที่นำมาทดสอบได้แก่ กลูตารัลดีไฮด์ ความเข้มข้นร้อยละ 2, โซเดียมไฮโปคลอไรต์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.25, ไฮโดรเจนเปอร์อ็อกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 35 และไอโอโดฟอร์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.007 ได้ผลว่า กลูตารัลดีไฮด์สามารถทำลายเชื้อเบซิลัส อโทรเพียส และจีโอเบซิลัส สตีโรเทอร์โมฟิลัสที่ 20 นาที และ 30 นาที ตามลำดับ ส่วนน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์อ็อกไซด์มีประสิทธิภาพที่ 5 นาที และไอโอโดฟอร์สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อจีโอเบซิลัส สตีโรเทอร์โมฟิลัสได้ แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อเบซิลัส อโทรเพียสได้ งานวิจัยดังกล่าวได้ให้ข้อสรุปว่า น้ำยาฆ่าเชื้อกลูตารัลดีไฮด์, โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และไฮโดรเจนเปอร์อ็อกไซด์ มีฤทธิ์ในการทำลายสปอร์ ดังนั้นสามารถใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อระดับสูงได้ แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาดังกล่าว ยังไม่มีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และไม่ได้รายงานถึงความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อได้

ในงานวิจัยนี้เลือกที่จะทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้กับเครื่องมือทันตกรรมที่มีขายในท้องตลาด โดยน้ำยากลุ่มที่สนใจนำมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพได้แก่ เอทานอล, โซเดียมไฮโปคลอไรต์, ไอโอโดฟอร์, อัลโปรปีไอบีฟอร์เต้, คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนต และยูโมเนียม ซึ่งน้ำยาทั้งหมดนี้จัดอยู่ในกลุ่มน้ำยาฆ่าเชื้อระดับกลาง โดยจะทำการเปรียบเทียบกับน้ำยาฆ่าเชื้อในกลุ่มน้ำยาฆ่าเชื้อระดับสูงคือ กลูตารัลดีไฮด์ น้ำยาฆ่าเชื้อระดับกลางในแต่ละชนิดนั้นมีกลไกในการฆ่าเชื้อแตกต่างกัน ซึ่งอาจทำให้ประสิทธิภาพ ในการฆ่าเชื้อนั้นแตกต่างกันไปด้วย ตัวอย่างเช่น เอทานอล มีกลไกในการออกฤทธิ์หลักคือ ทำลายโปรตีน และไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ โซเดียมไฮโปคลอไรต์มีกลไกในการออกฤทธิ์คือ การแตกตัวให้กรดไฮโปคลอรัส ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของซัลฟ์ไฮดริลเอนไซม์ (sulfhydryl enzymes) และกรดอะมิโนที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของแบคทีเรีย[6] ส่วนไอโอโดฟอร์นั้นมีกลไกในการออกฤทธิ์ที่คล้ายกันคือ เมื่อผสมน้ำแล้ว

จะให้ประจุไอโอดีนอิสระซึ่งจะผ่านผนังเซลล์ไปทำลายโปรตีนและทำลายกระบวนการสร้างกรดนิวคลีอิกด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนตเป็นน้ำยาในกลุ่มบิสไบกัวไนด์ (bisbiguanides) มีกลไกการออกฤทธิ์คือ จับกับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย และเพิ่มการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดการรั่วซึมขององค์ประกอบในไซโทพลาซึม[1] ส่วนน้ำยาในกลุ่มแอลกอฮอล์ผสมสารประกอบดูออลควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (alcohol-dual quaternary ammonium compounds) เช่น ยูโมเนียม มีสารที่ออกฤทธิ์หลักในการฆ่าเชื้อคือ แอลกอฮอล์ซึ่งส่วนมากเป็นไอโซโพรพานอล (isopropanol) ส่วนสารประกอบดูออลควอเทอร์นารีแอมโมเนียมนั้นจะช่วยลดข้อเสียของแอลกอฮอล์ที่มีคุณสมบัติระเหยเร็วทำให้น้ำยาคงอยู่บนพื้นผิวได้นานขึ้น ดังนั้น ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจึงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เป็นหลัก น้ำยาฆ่าเชื้อระดับสูงมีเพียงกลุ่มเดียวที่เป็นที่นิยมใช้ในทางทันตกรรมคือ กลูตารัลดีไฮด์ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มไดแอลดีไฮด์ (di-aldehyde) อิ่มตัว สามารถใช้เป็นสารที่ช่วยทำให้ปราศจากเชื้อ (chemical sterilant) ฤทธิ์หลักของสารในกลุ่มนี้ต่อเซลล์คือ จะไปยับยั้งการสร้างดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีน[6] (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 *ชนิดของน้ำยาฆ่าเชื้อชนิดต่าง ๆ สารออกฤทธิ์ที่ความเข้มข้นทำงาน และกลไกการออกฤทธิ์*

Table 1 *Type of disinfectants, active ingredient at working concentration and their mechanisms of action*

Disinfectants	CDC classification	Active ingredients at working concentration (% W/V)	Mechanisms of action
Iodophore (Post®)	Intermediate	Iodine (1.75 %)	Oxidation of cellular component, Disrupt cell membrane
NaOCl		Sodium Hypochlorite (0.5 %)	
Ethanal		Alcohol (70 %)	Denature protein, Dissolve lipid at cell membrane
QAC + Isopropryl Alc (Umonium®)		Isopropyl-tridecyl-dimethyl-ammonium (32 %)	
Chlorhexidine		Chlorhexidine gluconate (4 %)	Cell membrane
Alkylamines + guanidine (Alpro® BIB forte)		Isopropanol (5 - 15 %) Alkyl-propylene-diamine-guanidine (1.5 %)	Denature protein
Glutaraldehyde (Cidex®)	High	Glutaraldehyde (2.2 - 2.7 %)	DNA, RNA

การทดลองนี้ได้จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นใช้งาน และเมื่อถูกเจือจางลงทีละสองเท่าจนถึงหนึ่งในแปดส่วนของความเข้มข้นใช้งาน และศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อ เมื่อน้ำยานั้นถูกผสมทิ้งไว้เป็นระยะเวลานานแตกต่างกัน ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นแนวทางให้กับบุคลากรทางทันตกรรมได้เลือกใช้น้ำยาฆ่าเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ และคุ้มค่ากับราคา

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

ในการวิจัยนี้ใช้เชื้อที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus;* ATCC 25929), แซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม (*Salmonella typhimurium;* ATCC 14028) และเบซิลลัส ซับทีลิส (*Bacillus subtilis;* ATCC 6633) ซึ่งเป็นตัวแทนของเชื้อในกลุ่มแกรมบวกแกรมลบและแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ตามลำดับ โดยทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่นิยมใช้ทางทันตกรรม 7 ชนิดได้แก่ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 โดยปริมาตร (70 % ethanol), โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (POSE®, Pose Health Care Ltd, Bangkok, Thailand), ไอโอโดฟอร์ (POSE®, Pose Health Care Limited, Bangkok, Thailand), กลูตารัลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.4 โดยปริมาตร (CIDEX®, Johnson & Johnson LTD., Bangkok, Thailand) อัลโปรบีไอบีฟอร์เต้ (Modern combination of QAC and alkyl-propylene-diamine-guanidine (Alpro® BIB forte,

Alpro Medical Gmbh, St.Georgen, Germany) คลอร์เฮ็กซิดีนกลูโคเนต ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตร (4 % chlorhexidine gluconate, S. Tong Chemicals Co., Ltd, Bangkok, Thailand) ยูโมเนียม (Isopropanol and dual-QAC, Umonium®, Coverscience Co., LTD, Bangkok, Thailand)

การเพาะเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อที่นำมาใช้ในการทดลอง

นำเชื้อที่ต้องการทดสอบเพาะเลี้ยงจนได้โคโลนีเดี่ยว (isolated colony) ทำการถ่ายเชื้อมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ทริปติกซอย (tryptic soy broth, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India) หาระยะเวลาที่เชื้อเจริญเติบโตอยู่ในช่วงล็อก (log phase) โดยใช้วิธีวัดค่าความทึบแสง (optical density (OD)) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรในระยะเวลาต่าง ๆ แล้วนำค่าที่ได้มาวาดกราฟเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตกับเวลา เชื้อที่นำมาใช้ในการทดสอบจะถูกเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ทริปติกซอย จนถึงเวลาที่เหมาะสมในช่วงที่เชื้อมีอัตราการเจริญเติบโตสูง นำเชื้อที่ได้มาเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวให้ได้ค่าความทึบแสง 0.08 - 0.1 ตามที่ได้กำหนดไว้ในแนวทางในการปฏิบัติของเอ็นซีซีแอลเอส (National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS))[8]

สำหรับเชื้อเบซิลลัส ซับทีลิส ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวชนิดนิวเตรียน (nutrient broth) ผสมแมงกานีสซัลเฟต 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลามากกว่า 48 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นให้เชื้อสร้างสปอร์ และทำการทดสอบการมีอยู่ของสปอร์โดยการย้อมสีแกรม และการนำเชื้อที่ได้ไปต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำเชื้อที่ผ่านการต้มไปเพาะเลี้ยงในจานวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อนับจำนวนโคโลนีเปรียบเทียบกับเชื้อที่ไม่ผ่านการต้มเชื้อเบซิลลัส ซับทีลิสที่ถูกตรวจสอบแล้วว่า มีสปอร์จะถูกนำมาเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวให้ได้ค่าความทึบแสง 0.08 - 0.1 ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง[9, 10]

เตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดลองโดยนำน้ำยาฆ่าเชื้อมาเจือจางในไมโครเพลท 96 หลุม (96 well microplate) เจือจางน้ำยาลงครั้งละ 2 เท่า โดยเริ่มต้นจากน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น 4 เท่าของความเข้มข้นใช้งานตามที่ผู้ผลิตกำหนด (working concentration) จนถึง 1 : 4 เท่าของความเข้มข้นใช้งานเตรียมใส่ไว้ในไมโครเพลท ให้มีปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร

การทดสอบเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีบรอทไมโครไดลูชัน (Broth micro-dilution assay)

ในกลุ่มทดลองให้เป็นกลุ่มที่เชื้อสัมผัสกับน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เตรียมโดยนำเชื้อที่เตรียมไว้ (OD 0.08 - 0.1) ใส่ลงในไมโครเพลทที่มีน้ำยาความเข้มข้นต่าง ๆ อยู่ โดยใส่เชื้อหลุมละ 100 ไมโครลิตร เมื่อปริมาตรเชื้อผสมกับน้ำยาฆ่าเชื้อแล้วจะทำให้ความเข้มข้นของน้ำยาฆ่าเชื้อที่เตรียมไว้ถูกเจือจางลง 2 เท่า ทำให้ได้น้ำยาที่มีความเข้มข้นสุดท้ายตั้งแต่ 2 เท่าของความเข้มข้นใช้งานจนถึง 1 : 8 เท่าของความเข้มข้นใช้งานตามลำดับ

สำหรับกลุ่มควบคุมมีสองกลุ่มคือ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว 100 ไมโครลิตร แทนที่เชื้อผสมกับน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และใช้น้ำกลั่น 100 ไมโครลิตรผสมกับเชื้อ 100 ไมโครลิตร ทั้งนี้แต่ละเพลทจะประกอบไปด้วยเชื้อ 1 ชนิด และน้ำยา 1 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากผสมเชื้อกับน้ำยาฆ่าเชื้อนำไมโครเพลททั้งหมดไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. แล้วนำเพลทที่ได้มาวัดการเจริญเติบโตของเชื้อโดยอ่านค่าความทึบแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (microplate reader Model Synergy H1, BioTek®, USA) เปรียบเทียบค่าความทึบแสงของกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มทดลองหลุมที่มีน้ำยาฆ่าเชื้อความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อคือ ค่าเอ็มไอซี (Minimum Inhibitory Concentration (MIC))

นำเชื้อในหลุมในกลุ่มทดลองที่ไม่สามารถสังเกตเห็นการเจริญเติบโตของเชื้อด้วยตาเปล่าไปทำการเพาะเลี้ยงลงบนจานวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ (nutrient agar, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India) เพื่อหาว่าในหลุมที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อนั้นยังมีเชื้อที่มีชีวิตหลงเหลืออยู่หรือไม่ โดยความเข้มข้นของน้ำยาฆ่าเชื้อในหลุมที่น้อยที่สุดที่ไม่มีเชื้อขึ้นบนเพลทเลยคือ ค่าเอ็มบีซี (Minimal Bactericidal Concentration (MBC)) การทดลองที่กล่าวมาข้างต้นถูกทำซ้ำสามครั้ง บันทึกผลการทดลองที่ได้ และนำมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาแต่ละชนิด

การทดสอบเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ผสมทิ้งไว้นานต่างกัน

ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นใช้งานที่ผสมเสร็จทันทีผสมทิ้งไว้ 3 วัน 7 วัน 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์ตามลำดับ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของน้ำยาฆ่าเชื้อประเภทต่าง ๆ ที่ถูกผสมทิ้งไว้ด้วยระยะเวลานานต่างกัน โดยใช้น้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นใช้งานตามที่ผู้ผลิตกำหนด ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ผล

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ยูโมเนียม, คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนต, อัลโปรปีไอบีฟอร์เต้ และกลูตารัลดีไฮด์ ในทุกความเข้มข้นที่ทดลองคือ ที่ความเข้มข้นสองเท่าของความเข้มข้นใช้งาน (2W), ความเข้มข้นใช้งาน (W), เจือจาง 2 เท่า (W/2), เจือจาง 4 เท่า (W/4) และเจือจาง 8 เท่า (W/8) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส, แซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม และเบซิลลัส ซับทีลิสได้ ส่วนเอทานอลในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส และแซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียมได้ แต่ไม่สามารถฆ่าเบซิลลัส ซับทีลิสได้เลยในทุกความเข้มข้น นอกจากนี้ยังพบว่า ไอโอโดฟอร์ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวอ็อกซิไดซ์ที่มีประสิทธิภาพสูง (strong oxidizing agent) ไม่สามารถฆ่าเชื้อแซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม และเบซิลลัส ซับทีลิสได้ หากใช้ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นใช้งาน (รูปที่ 1) แต่สามารถฆ่าเชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียสได้ในทุกความเข้มข้นที่ทดลอง

		S. aureus					*S. typhimurium*					*B. subtilis*				
		2W	W	W/2	W/4	W/8	2W	W	W/2	W/4	W/8	2W	W	W/2	W/4	W/8
Iodophore (Post®)	MIC	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
	MBC	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
NaOCl	MIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
	MBC	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
Ethanol	MIC		-	-	-	-		-	-	-	-		+	+	+	+
	MBC		-	-	-	-		-	-	-	-		+	+	+	+
QAC + Isopropyl Alc (Umonium®)	MIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MBC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chlorhexidine	MIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MBC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alkylamines + guanidine (Alpro® BIB forte)	MIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MBC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glutaraldehyde (Cidex®)	MIC		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-
	MBC		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-

W: working concentration

รูปที่ 1 *การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส, แซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม และเบซิลลัส ซับทีลิส*

(+) หมายถึง มีการเจริญเติบโตของเชื้อหลังทดสอบกับน้ำยาฆ่าเชื้อ

(-) หมายถึง ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อหลังทดสอบกับน้ำยาฆ่าเชื้อ

Figure 1 *Comparison of the efficacy of disinfectants in various concentrations against S. aureus, S typhimureum and B. subtilis*

(+) means bacteria growth after the test

(-) means no bacteria growth after the test

การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ผสมทิ้งไว้ในระยะเวลาต่าง ๆ โดยใช้น้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นใช้งานพบว่า น้ำยาฆ่าเชื้อทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ เมื่อถูกผสมทิ้งไว้ในระยะเวลาต่าง ๆ กันคือ ผสมใหม่ภายในวันที่ทดสอบ ผสมทิ้งไว้ 3 วัน 7 วัน 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์ สามารถคงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อทั้งสามชนิดไว้ได้ในทุกเวลาที่ทำการทดสอบ ยกเว้นเอทานอลไม่สามารถฆ่าเชื้อเบซิลลัส ซับทีลิสได้ในทุกช่วงเวลาที่ทำการทดสอบ แม้จะเป็นน้ำยาที่ผสมใหม่ภายในวันนั้นก็ตาม (รูปที่ 2)

	Recommended use-life	*S. aureus*					*S. typhimurium*					*B. subtilis*				
		F	3D	1W	2W	4W	F	3D	1W	2W	4W	F	3D	1W	2W	4W
Iodophore (Post®)	Daily	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaOCl	Daily	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	1 month	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
QAC + Isopropyl Alc (Umonium®)	20 days	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chlorhexidine	1 month	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alkylamines + guanidine (Alpro® BIB forte)	7 days	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glutaraldehyde (Cidex®)	14 days	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

F: Freshly, 3D: 3 days, 1W: week, 2W: 2weeks, 4W: 4week

รูปที่ 2 *การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นใช้งาน ที่ผสมทิ้งไว้ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันต่อเชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส, แซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม และเบซิลลัส ซับทีลิส*

(+) หมายถึง มีการเจริญเติบโตของเชื้อหลังทดสอบกับน้ำยาฆ่าเชื้อ

(-) หมายถึง ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อหลังทดสอบกับน้ำยาฆ่าเชื้อ

Figure 2 *Comparison of the efficacy of disinfectants in various times after the preparation against S. aureus, S. typhimureum and B. subtilis*

(+) means bacteria growth after the test

(-) means no bacteria growth after the test

บทวิจารณ์

การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาฆ่าเชื้อในครั้งนี้เลือกใช้เชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส, แซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม และเบซิลลัสซับทีลิส โดยเชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส และแซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียมนั้น เป็นเชื้อมาตรฐานที่ได้รับการแนะนำไว้โดยหน่วยงานด้านการป้องกันสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกาให้นำมาใช้ในการทดสอบมาตรฐานของน้ำยาฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ เชื้อสองตัวนี้ยังพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เชื้อสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียสนั้น เป็นเชื้อในกลุ่มแกรมบวกที่พบได้บนผิวหนัง และง่ายที่จะปนเปื้อนมายังเครื่องมือ เชื้อแซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม เป็นเชื้อในกลุ่มแกรมลบที่มีความทนทานต่อน้ำยาฆ่าเชื้อต่างจากเชื้อในกลุ่มแกรมบวก และเป็นเชื้อก่อโรคที่พบได้บ่อย ส่วนเชื้อเบซิลลัส ซับทีลิสนั้น เป็นเชื้อในกลุ่มแกรมบวกที่สามารถสร้างสปอร์ได้ เชื้อนี้พบได้บ่อยในดินและสิ่งแวดล้อมสปอร์ของเชื้อนี้สามารถฟุ้งกระจายไปในอากาศและง่ายต่อการปนเปื้อนมายังเครื่องมือ[5] ผลที่ได้จากการทดสอบในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า น้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้ในการทดลองยังคงมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแม้ถูกเจือจางไปหลายเท่าก็จริง แต่พึงระลึกไว้เสมอว่า การทดลองนี้ถูกเตรียมขึ้นในสภาวะอุดมคติ (ideal condition) คือ แบคทีเรียที่นำมาทดสอบลอยอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างอิสระ (planktonic form) และสามารถสัมผัสกับน้ำยาฆ่าเชื้อในทุกทิศทางจึงเป็นสภาวะที่ส่งเสริมให้น้ำยาฆ่าเชื้อแสดงประสิทธิภาพได้อย่างเต็มที่ ซึ่งสภาวะนี้ยากที่จะเกิดในความเป็นจริงที่แบคทีเรียอาจถูกปิดกั้นไม่ให้สัมผัสกับน้ำยาอย่างเต็มที่ จากการซ้อนทับกันตามธรรมชาติ หรือถูกปิดบังโดยสารอินทรีย์อื่น ๆ ผลที่ออกมาจากการทดสอบนี้ น้ำยาฆ่าเชื้อจึงอาจแสดงประสิทธิภาพสูงกว่าที่พบในการใช้งานจริง นอกจากนี้งานวิจัยนี้ ไม่ได้ทำการทดสอบกับเชื้อไวรัส หรือแบคทีเรีย ที่มีความทนทานกลุ่มอื่น เช่น เชื้อในกลุ่มไมโคแบคทีเรียม หรือ ไมโคพลาสมา ดังนั้น ในทางปฏิบัติเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ผู้วิจัยยังคงแนะนำให้ใช้น้ำยาฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นใช้งานที่แนะนำโดยบริษัทผู้ผลิต ในการทดลองนี้ น้ำยาฆ่าเชื้อบางตัวสามารถคงประสิทธิภาพไว้ได้นานถึง 4 สัปดาห์ภายหลังจากการผสม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก

น้ำยาฆ่าเชื้อนั้นถูกเก็บในภาชนะปิดหลังจากการผสม และการทดลองอยู่ในสภาวะอุดมคติดังที่กล่าวมาแล้ว หากมีการ ใช้งานจริง ประสิทธิภาพอาจไม่เทียบเคียงผลที่ได้จากการทดลอง คณะผู้วิจัยจึงยังคงแนะนำให้ใช้น้ำยาฆ่าเชื้อตามอายุการใช้งานที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด งานวิจัยของ Clarkson RM และคณะ[11] ทำการทดสอบปริมาณคลอไรด์ไอออนของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ถูกเจือจาง และถูกเก็บในสภาวะต่าง ๆ พบว่า ปริมาณคลอไรด์ไอออนจะลดลงอย่างมากหากเก็บในภาชนะเปิด ถูกแสงแดด หรือในที่ที่มีความร้อน แต่จะค่อนข้างอยู่ตัวเมื่อหลีกเลี่ยงสภาวะดังกล่าว

เป็นที่น่าสังเกตว่า น้ำยาฆ่าเชื่อที่มีฤทธิ์เป็นสารอ็อกซิไดซ์อย่างแรง เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และไอโอโดฟอร์ จะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อถูกเจือจาง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากฤทธิ์ในการเป็นสารอ็อกซิไดซ์ของน้ำยาถูกทำให้ลดลงเมื่อถูกเจือจางด้วยน้ำ ดังนั้น จึงเป็นสิ่งที่ผู้ใช้งานพึงให้ความระมัดระวัง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Frais S และคณะ[12] ที่รายงานว่า สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เมื่อถูกเจือจางจะมีปริมาณของคลอไรด์ไอออนอิสระที่ลดลง ซึ่งคลอไรด์ไอออนอิสระเป็นส่วนสำคัญในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อของโซเดียมไฮโปคลอไรต์จึงทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อลดลงมากเมื่อถูกเจือจาง Penna TC และคณะ[13] ได้รายงานค่าความเข้มข้นต่ำสุดของคลอร์เฮ็กซิดีนที่สามารถยับยั้งเชื้อเบซิลัส ซับทีลิส และสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส ได้อยู่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และ 0.0071 โดยปริมาตรตามลำดับ การศึกษาในครั้งนี้พบว่า คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนตมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำการทดสอบคือ ร้อยละ 0.5 จึงยังไม่สามารถสรุปความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองได้ ส่วนกลูตารัลดีไฮด์ มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อเบซิลัส ซับทีลิส และสแต็ปฟิโลค็อคคัส ออเรียส ได้อยู่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.325 และ 0.1875 โดยปริมาตรตามลำดับ ตามรายงานของ Penna TC และคณะ[13] แต่การศึกษาในครั้งนี้พบว่า กลูตารัลดีไฮด์ยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อทั้งสองที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทดสอบคือ หนึ่งในแปดส่วนของความเข้มข้นใช้งาน ซึ่งเทียบเท่าความเข้มข้นร้อยละ 0.275 โดยปริมาตร จึงยังไม่สามารถสรุปค่าความเข้มขั้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้

ถึงแม้ว่า จะอยู่ในสภาวะอุดมคติ เอทานอลก็ไม่สามารถทำลายแบคทีเรียที่สร้างสปอร์อย่าง เบซิลลัส ซับทีลิสได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Thomas P[14] ซึ่งระบุว่า สปอร์ของเชื้อเบซิลัสสายพันธุ์ต่าง ๆ รวมทั้งเบซิลัส ซับทีลิสสามารถอยู่รอดในเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงสุดถึงร้อยละ 80 โดยปริมาตร เป็นเวลานานถึง 12 เดือน ทั้งนี้ สมาคมทันตแพทย์แห่งสหรัฐอเมริกาไม่แนะนำให้ใช้เอทานอลในการทำความสะอาดพื้นผิวบริเวณที่มีการปนเปื้อนในคลินิกทันตกรรม เนื่องจากมีอัตราการระเหยสูง ทำให้ไม่สามารถออกฤทธิ์ได้นานพอที่จะฆ่าเชื้อบนพื้นผิว การทดลองในครั้งนี้ปล่อยให้เชื้อสัมผัสกับเอทานอลในหลุมก็จริง แต่ฝาของไมโครเพลทไม่สามารถป้องกันการระเหยของเอทานอลได้ ผลการทดลองที่ออกมาจึงแสดงให้เห็นว่า การระเหยของเอทานอลอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อโดยทางอ้อมได้ ในปัจจุบันเอทานอลยังคงถูกนำมาใช้ทำความสะอาดพื้นผิวในคลินิกทันตกรรมอย่างแพร่หลาย ดังนั้น ทันตบุคลากรจึงควรเข้าใจว่าเอทานอลมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอในการนำมาทำความสะอาดพื้นผิวต่าง ๆ ในคลินิกทันตกรรม โดยเฉพาะพื้นผิวที่มีการปนเปื้อนของสารคัดหลั่งของผู้ป่วย

บทสรุป

ยูโมเนียม, คลอร์เฮ็กซิดีน กลูโคเนต, อัลโปรบีไอบีฟอร์เต้ และกลูตารัลดีไฮด์ มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้ง และฆ่าเชื้อทั้งสามชนิดที่นำมาทดสอบได้ที่ระดับเจือจางมากกว่า หรือเท่ากับความเข้มข้นที่ 8 เท่าของความเข้มข้นใช้งาน น้ำยาฆ่าเชื้อทุกชนิดที่นำมาทดสอบ ยกเว้น เอทานอลเมื่อเก็บไว้ในภาชนะปิดสามารถคงประสิทธิภาพได้ถึง 4 สัปดาห์ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และไอโอโดฟอร์ จะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อถูกเจือจางกว่าความเข้มข้นใช้งาน และเอทานอล ไม่มีประสิทธิภาพต่อแบคทีเรียที่สร้างสปอร์อย่าง เบซิลลัส ซับทีลิส ในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนอุดหนุนการวิจัยโครงการขับเคลื่อนการวิจัย (STAR) ในแผนพัฒนาวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (จุฬาฯ 100 ปี) (The Special Task force for Activating Research (STAR) under Chulalongkorn University Centenary Fund) ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Faculty of Medicine, Chulalongkorn University ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อสายพันธุ์มาตรฐานแซลโมเนลลา ไทฟิมิวเรียม (ATCC 14028) และเบซิลลัส ซับทีลิส (ATCC 6633) เจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาเภสัชศาสตร์ ศูนย์วิจัยเนื้อเยื่ออนินทรีย์ และฝ่ายวิจัยคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University) ที่ช่วยสนับสนุนให้งานวิจัยนี้ดำเนินมาได้ด้วยดี ประโยชน์ที่พึงได้รับจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

1. Molinari JA, Harte JA. Practical Infection Control In Dentistry. 3rd ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2010. p. 177-178.
2. Wood PR. Cross infection control in dentistry a practical illutratrated guide. 2nd ed. London: Wolfe Publishing Ltd.; 1992. p. 199.
3. fda.gov [homepage on the Internet]. Maryland: US Food and Drug Administration [updated 2014 May 22; cited 2014 Aug 15]. Available from: http://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm073773.htm#_Toc472478075.
4. eoma.aoac.org [homepage on the Internet]. Maryland: AOAC international; [updated 2014 Apr; cited 2014 Aug 15]. Available from: http://www.eoma.aoac.org/.
5. Ascenzi JM. Handbook of Disinfectants and Antiseptics. New York: Marcel Dekker Inc.; 1996. p. 109.
6. William AR, David JW, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. Georgia: Centers for Disease Control and Prevention; 2008. p. 38-53.
7. Arirachakaran P, Sinheng W, Theparee T, Arirachakaran AA. Sporicidal effects of common disinfectants and their practical application in dental practice in Thailand. ***CU Dent J*** 2008;31:11-8.
8. Swenson JM, Killgore GE, Tenover FC. Antimicrobial Susceptibility Testing of Acinetobacter spp. by NCCLS Broth Microdilution and Disk Diffusion Methods. ***J Clin Microbiol*** 2004;42:5102-8.
9. Springthorpe VS and Sattar SA. Carrier tests to assess microbicidal activities of chemical disinfectants for use on medical devices and environmental surfaces. ***J AOAC Int*** 2005;88:182-201.
10. Majcher MR, Bernard KA, Sattar SA. Identification by quantitative carrier test of surrogate spore-forming bacteria to assess sporicidal chemicals for use against bacillus anthracis. ***Appl Environ Microbiol*** 2008;74:676-81.
11. Clarkson RM, Moule AJ, Podlich HM. The shelf-life of sodium hypochlorite irrigating solutions. ***Aust Dent J*** 2001;46:269-76.
12. Frais S, Ng YL, Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. ***Int Endod J*** 2001;34:206-15.
13. Penna TC, Mazzola PG, Silva Martins AM. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs. ***BMC Infect Dis*** 2001;1:16.
14. Thomas P. Long-term survival of Bacillus spores in alcohol and identification of 90 % ethanol as relatively more spori/bactericidal. ***Curr Microbiol*** 2012;64:130-9.

Original Article

Effects of Acidic and Green Tea Soft Drinks on the Shear Bond Strength of Metal Orthodontic Brackets

Supassara Sirabanchongkran[1] and Siriwat Wattanapanich[2]

[1]Department of Orthodontics and Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

[2]Private Practices, Chiang Mai, Thailand

Correspondence to:

Supassara Sirabanchongkran. Department of Orthodontics and Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University, Suthep Road. Amphoe Mueang, Chiang Mai, 50200 Thailand Tel: 053-94-4465, 085-8669759 Fax: 053-222844 E-mail: s_supassara@yahoo.com

Abstract

The objective was to evaluate the effects of two soft drinks on the shear strength of bonds between metal orthodontic brackets and enamel using two types of adhesives. Seventy-two maxillary premolars extracted for orthodontic treatment were randomly divided into two equal groups according to the adhesive systems used to bond the brackets: Transbond™ XT primer and Transbond™ Plus Self Etching Primer (SEP). The teeth in both groups were divided equally into three subgroups: 1) artificial saliva (control), 2) Coca-Cola®, 3) Oishi® green tea. The teeth were kept in the drinks for 15 minutes, two times a day over a 90-day period. The Shear Bond Strength (SBS) tests were performed with a universal testing machine. A scanning electron microscope was used to examine the effect of the drinks on enamel surfaces.The highest mean bond strength (17.52 MPa) was achieved in the Transbond™ XT primer/control group, and the lowest mean bond strength (6.26 M Pa) was in the Transbond™ Plus SEP/Coca-Cola® group. No significant differences were found in the shear bond strength among three subgroups using Transbond™ XT primer. For the Transbond™ Plus SEP, Coca-Cola® produced a significantly ($p < 0.05$) lower bond strength than did the control group. Erosion on enamel surfaces was observed in the Coca-Cola® group, while there were no extensive defects in the Oishi® group. ARI scores were similar among the group with the same adhesive primer. Coca-Cola® and Oishi® green tea did not affect the shear bond strength when conventional Transbond™ XT primer was used, whereas Coca-Cola® showed a negative effect on bond strength when Transbond™ Plus SEP was applied.

Key words: Orthodontic bonding; Shear bond strength; Soft drink

Received Date: Sept 19, 2014, Accepted Date: Nov 17, 2014

Introduction

A reliable bond between bracket and tooth enamel is essential during orthodontic treatment with fixed appliances. Despite the improvement of dental adhesives, bracket bond failure is still found. Failure rates of 4 % - 17.6 % have been reported in clinical studies.[1-3] The success of bracket bonding can be negatively affected by many factors, such as saliva contamination, poor operating technique, bracket base, enamel surface, and masticatory forces.[4-7] Moreover, some foods and drinks are found to have the potential to cause bond failure.[8,9] Acidic and alcoholic drinks have been reported to soften enamel around the brackets,[8,10] while some studies found that those drinks can deteriorate the adhesive resin.[9,11] Acidic soft drinks , which usually contain phosphoric acid or citric acid, can decrease the pH value of the mouth to below 5.5; and create the medium for enamel decalcification or erosion.[12] Erosion is a defect on the enamel surface. It can decrease the bracket retention.[12,13] In 2009 Ulusoy *et al*[14] reported that rosehip fruit tea might be a causative factor in the failure of bracket bonds. Soft drinks consumption is common worldwide. Apart from carbonated soft drinks, "Ready-To-Drink (RTD) green tea" is very popular, especially among adolescents and in Asia-Pacific countries. RTD green tea contains tea extract, sweeteners, additional flavorings, and other ingredients. Routinely drinking RTD green tea could affect the bracket-enamel bonding. In Thailand, Coca-Cola® and Oishi® are examples of the leading brands of carbonated soft drinks and RTD green tea, respectively.

To our knowledge, there is no study reporting the effect of RTD green tea on the strength of bonds between orthodontic brackets and enamel. In addition, no study appears to reveal the effects of soft drinks on bond strength when using self-etch adhesives. The self-etch adhesive systems combine both the conditioner and primer into one acidic-primer step. Therefore, acid conditioning and rinsing steps as instructed in conventional bonding systems are no longer required. The self-etch primers can etch and infiltrate the enamel simultaneously.[15] This *in vitro* study was carried out to evaluate the effect of two soft drinks, i.e., Coca-Cola® and Oishi® RTD green tea, on Shear Bond Strength (SBS) of orthodontic brackets when using a conventional (Transbond™ XT adhesive and primer, 3M Unitek, California, USA) and a self-etch adhesive system (Transbond™ Plus Self Etching Primer (SEP) and Transbond™ XT adhesive, 3M Unitek, California, USA). The studied hypothesis was that those two soft drinks would not affect the SBS of the brackets, regardless of adhesive systems used. This study was also aimed to observe the effect of these drinks on the enamel surface using Scanning Electron Microscope (SEM).

Materials and Methods

Teeth and brackets

Seventy-two maxillary premolar teeth extracted for orthodontic treatment were used in this study. All teeth had intact enamel without caries, restorations, fluorosis, or other defects. The teeth were stored in 0.1 % thymol solution for one to seven months prior to the bonding procedure. Stainless steel brackets for maxillary premolar teeth (Gemini Series; 3M Unitek, Monrovia, California, USA) were used in the study. The base area of bracket was 10.61 mm^2.

Bonding procedure

The test specimens were handled and prepared by the same operator. The buccal surface of each tooth was polished with fluoride-free pumice slurry and a rubber cup for 10 seconds, and then rinsed with water for 10 seconds. Excess water was removed from the tooth surface by oil-free compressed air. The teeth were randomly divided into two groups according to the adhesive systems used to bond the brackets: Conventional Transbond™ XT (3M Unitek) and Transbond™ Plus SEP (3M Unitek). The processes of application of these two adhesives are described below.

Conventional Transbond™ XT system: The buccal enamel was etched with 37 % orthophosphoric acid for 15 seconds, and was rinsed with water for 10 seconds. After that, the enamel surface was dried with oil-free compressed air (for 5 seconds). A layer of Transbond™ XT primer was applied on the surface, and Transbond™ XT resin adhesive paste was placed on the bracket base. Then, the bracket was positioned properly on the center of the buccal surface with the axis of the bracket parallel to the axis of the tooth, and was pressed firmly onto the tooth. The excess adhesive was removed from around the base of the bracket, and the adhesive was polymerized with a curing light (1,100 mW/cm^2, MiniLED™, Acteon, Niort, France) for 10 seconds on each side of the bracket edge.

Transbond™ Plus SEP: The Transbond™ Plus SEP was applied on the buccal enamel with a rubbing motion for three seconds and gently air-blown for five seconds. This was followed by placement of Transbond™ XT resin adhesive paste to the base of the bracket, which was then bonded to the tooth surface in the same manner as in the Transbond™ XT group.

The adhesives used in this study, along with their manufacturers and batch numbers, are listed in Table 1. All the materials were used according to the manufacturers' recommendations.

Table 1 *The adhesives used in this study*

	Adhesives	Batch No.	Manufacturers
N = 36	Transbond™ XT		3M Unitek, Monrovia, California, USA
	- Transbond™ XT Adhesive Primer	N207652	
	- Transbond™ XT Adhesive Paste	N213164	
N = 36	Transbond™ Plus Self Etching Primer (SEP)	422906B	3M Unitek, Monrovia, California, USA

Storage of test specimens and experimental groups

The specimens in each adhesive group were randomly divided into three equal subgroups:

- Control: The specimens were immersed in artificial saliva at 37 ºC for 90 days. The saliva was renewed every day.

- Coca-Cola® (Thai Namthip Ltd., Bangkok, Thailand): The specimens were immersed in Coca-Cola® for two sessions of 15 minutes with an intervening interval of six hours every day, for 90 days. The rest of the time they were kept in the artificial saliva at 37 °C.

- Oishi® RTD green tea (Oishi Group Public Co., Ltd., PathumThani, Thailand): The specimens were immersed in Oishi® RTD tea using the same procedures as for the Coca-Cola® group.

The artificial saliva used in this study was prepared from 0.4 g NaCl, 1.21 g KCl, 0.78 g $NaH2PO_4$ $2H_2O$, 0.005 g Na_2S $9H_2O$, 1 g $CO(NH_2)_2$, 1,000 mL of distilled and deionized water, and 10 N sodium hydroxide.[8] The contents of soft drinks as revealed by the manufacturers are listed in Table 2.

Table 2 *Soft drink contents according to the manufacturers' information*

Soft drinks and manufacturers	Contents
Coca-Cola® (Thai Namthip Ltd., Bangkok, Thailand)	Phosphoric acid, Fructose, Carbon Dioxide, Caffeine, Coca extract
Oishi® RTD green tea (Oishi Group Public Co., Ltd., PathumThani, Thailand)	94 % Green tea, 6 % Fructose syrup

The pH value of each medium was measured electronically with the pH meter (Mettler TOLEDO MP225 pH Meter, Mettler-Toledo GmbH, Schwerzenbach, Switzerland) at room temperature.

In brief, 72 specimens were divided into six equal groups (N = 12) according to the adhesive used and soft drinks to which they were exposed:

Group 1: Transbond™ XT primer/Control
Group 2: Transbond™ XT primer/Coca-Cola®
Group 3: Transbond™ XT primer/Oishi® RTD green tea
Group 4: Transbond™ Plus SEP/Control
Group 5: Transbond™ Plus SEP/Coca-Cola®
Group 6: Transbond™ Plus SEP/Oishi® RTD green tea

Shear bond strength (SBS) test

After 90 days, all specimens were mounted in acrylic blocks to carry out SBS testing. SBS was measured in the Instron® universal testing machine (Model number 5566, Instron Calibration Laboratory, Norwood, Massachusetts, USA) with a load cell of 500 kN. A shear test using a thin debonding plate with a crosshead speed of 0.5 mm per minute was applied to the bracket-tooth interface in an occluso-gingival direction until the bracket detached from the tooth. The force when debonding occurred was recorded in Newtons (N) and the SBS was calculated in megapascals (MPa) as the ratio of Newtons to the area of the bracket base (MPa = N/mm^2).

The adhesive remnant index (ARI) was also recorded under 3x magnification according to Artun and Bergland.[16] Score 0 signified that there was no adhesive left on tooth surface. Score 1 signified that there was less than 50 % of the adhesive left on the tooth surface. Score 2 signified that there was more than 50 % of the adhesive left on the tooth surface. Lastly, score 3 meant that all of the adhesive was left on the tooth surface.

The tooth surfaces of specimens in each media after debonding were examined with SEM (JEOL JSM-5910 LV; JEOL Ltd., Tokyo, Japan). Images of tooth surfaces were recorded and stored digitally.

Statistical analysis

The analysis was carried out using the SPSS program version 19.0 (SPSS, Chicago, IL, USA), and the level of significance was set at $p < 0.05$. As the SBS data were normally distributed (Kolmogorov-Smirnov test) and exhibited homogeneous variance (Levene's test), a two-way ANOVA was applied to assess the significance of the difference in bond strength among the study groups. Tukey's test was used for post-hoc comparisons.

Results

Means and standard deviations of SBS are presented in Table 3. Two-way ANOVA showed that

dental adhesives and soft drinks affected the SBS of enamel-bracket bonds ($p < 0.05$). The interaction between these two factors was not statistically significant ($p < 0.05$). The highest mean SBS (17.52 MPa) was achieved in the Transbond™ XT primer/control group, and the lowest mean bond strength (6.26 MPa) was found in the Transbond™ Plus SEP/Coca-Cola® group. The post hoc test for multiple comparisons showed that there were no significant differences between the SBS in the three groups using Transbond™ XT primer. For the Transbond™ Plus SEP, Coca-Cola® produced a significantly lower bond strength than did the control group. However, no significant difference was observed between Oishi® RTD green tea and control group.

Table 3 *Means and standard deviations of shear bond strengths (MPa) of the study groups and the pH of each medium*

	pH	Transbond™ XT primer	Transbond™ Plus SEP
Control	8.51	17.52^{a} (± 2.98)	11.94^{b} (± 4.61)
Coca-Cola®	2.46	16.23^{a} (± 3.28)	6.26^{c} (± 3.66)
Oishi® RTD green tea	5.96	16.32^{a} (± 2.01)	9.14^{bc} (± 4.05)

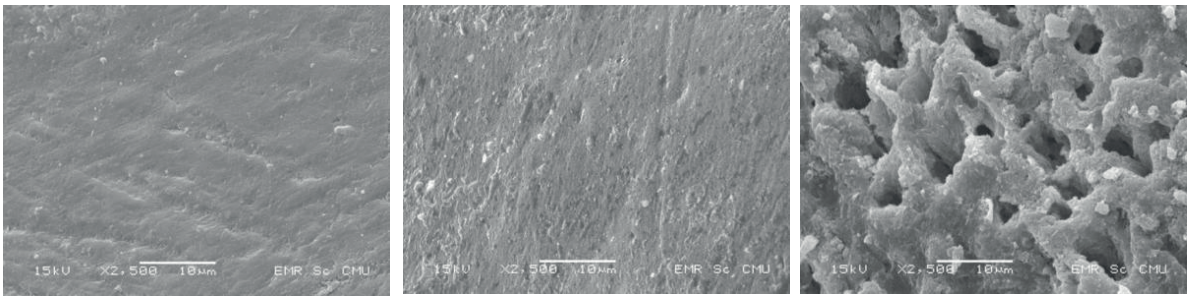
Means with the same superscript letters were not significantly different.

The ARI scores which identified the bond failure mode after debonding were shown in Table 4. The majority of bond failures were adhesive in nature. In all groups bonded with Transbond™ SEP, more than 50 % of the adhesive was removed with the bracket base (ARI 0 or 1). Some imprints of the adhesive were found in the groups bonded with Conventional Transbond™ XT primer (ARI 2, 3).

Table 4 *Frequency and percentage of ARI scores for each study group*

		N (%)	ARI scores			
			0	1	2	3
Transbond™ XT primer	Control	12 (100 %)	1 (8.33 %)	10 (83.33 %)	0	1 (8.33 %)
	Coca-Cola®	12 (100 %)	0	9 (75.00 %)	0	3 (25.00 %)
	Oishi® RTD green tea	12 (100 %)	1 (8.33 %)	7 (58.33 %)	3 (25.00 %)	1 (8.33 %)
Transbond™ Plus SEP	Control	12 (100 %)	5 (41.67 %)	7 (58.33 %)	0	0
	Coca-Cola®	12 (100 %)	10 (83.33 %)	2 (16.67 %)	0	0
	Oishi® RTD green tea	12 (100 %)	7 (58.33 %)	5 (41.67 %)	0	0

The results of SEM (2,500X magnifications) tests were shown in Fig. 1 The enamel surface outside the bracket in the Coca-Cola® group (Fig.1C) showed significant erosion, while those that had been immersed in Oishi® RTD green tea (Fig. 1B) did not show extensive defects compared with intact enamel in the control group (Fig. 1A).



A B C

Figure 1 *Scanning Electron Microscopy (SEM) evaluation (2,500X magnifications) of the tooth surface outside the bracket. A. Control B. Oishi® RTD green tea C. Coca-Cola® groups*

Discussion

This *in vitro* study was designed to reproduce the situation *in vivo*; by assuming that Coca-Cola® and Oishi® RTD green tea are consumed two times a day and each consumption period would be 15 minutes. The specimens were kept in artificial saliva at 37 °C between submersions in the drinks to simulate normal oral conditions.

In this study, the enamel-bracket bond strength values in the conventional Transbond™ XT groups were significantly higher than in the Transbond™ Plus SEP groups, and the mean SBS was highest in the control group, in which the specimens were not exposed to soft drinks. The bond strength values when using conventional Transbond™ XT system did not show significant differences between the three subgroups: control, Coca-Cola®, and Oishi® RTD green tea. These findings were similar to the results of Navarro *et al* (2011), who reported that bond strength values for brackets immersed in Coca-Cola® and Schweppes® Limon were not significantly different from those in their control group.[17] Some studies found that Coca-Cola® has a negative effect on bracket-enamel bonding.[8,12] However, those studies were designed to immerse the specimens in soft drinks three times a day, and one study used distilled water to imitate the oral environment,[12] whereas in this study, the specimens were exposed to soft drinks only twice a day to replicate as closely as possible the soft drink consumption in orthodontic patients. In addition, this study created the oral environment by keeping the specimens in artificial saliva at 37 ºC between submersions in soft drinks, which may enable a remineralizing effect of saliva on enamel to occur.[18,19] Coca-Cola® is an acidic media and it can decalcify tooth.[20] It leaches the calcium out of the teeth, softens and erodes the dental hard tissues, and facilitates abrasion. In addition, acid and acidic drink adsorption may degrade the structure of bisphenol A glycidyl methacrylate-based composite resins which is the main composition of the adhesive used in this study. The matrix of the adhesive can be softened and the filler can leach out, then lowering the bond strength of the bracket.[9] In this study, acidic medium could decrease

the bond strength only in the Transbond™ Plus SEP groups from the lower mechanical retention compared to conventional bonding system.

There are some studies on the performance of orthodontic self-etch adhesives, but a report regarding the effects of soft drinks on the strength of bonds to brackets when using these adhesives has not been found so far. This study investigated the effect of soft drinks on Transbond™ Plus SEP. The study found that the Coca-Cola® group showed the lowest mean SBS (6.26 MPa), and significantly lower than in the control group (11.94 MPa), whereas the SBS in the Oishi® RTD green tea group (9.14 MPa) did not show significant difference with either the control or Coca-Cola® group. As there is no previous study reporting the effect of soft drinks on the SBS of brackets bonded to enamel with self-etch adhesive system, comparisons with previous studies are not possible. However, from this study's results, it appears that Coca-Cola® has a negative effect on bracket retention when using Transbond™ Plus SEP. On the other hand, there were no significant statistical differences in SBS between the RTD green tea group and the control group, regardless of adhesive systems.

The enamel defects observed under SEM in the Coca-Cola® group were far more extensive than in the RTD green tea group. Oishi® RTD green tea, with mild acidic pH level, contains no acid, whereas there is phosphoric acid in Coca-Cola®. It has been stated that the erosive capacity of soft drinks is associated with their acidity[10], which supports this study's results. Phosphoric acid-based drinks, like Coca-Cola®, have also been reported to have a more severe erosive effect on tooth enamel than do citric acid-based drinks.[1] Enamel defects observed using SEM in this study were similar to the results from other studies, which have revealed the erosive defect on enamel caused by acidic soft drinks such as Coca-Cola®.[10,21] Herbal tea is also found to cause enamel loss, especially when fruit products containing organic acid were added.[22-24] Oishi® RTD green tea produced mild erosive pattern on enamel. In this study, artificial saliva would remineralized the enamel defects. Saliva might have protective effect on enamel surface.[19] However, the findings of Dinçer *et al*[10] found this defense mechanism only in the group that was not exposed to acidic soft drinks. Further investigation on saliva remineralization and erosive soft drinks may also be needed.

Consuming of soft drinks could influence the tooth surface and bond strength especially with self-etch primer in this study. The dentists should educate the patients to prevent harmful effect more than good brushing technique.[25] Moreover, orthodontist should limit the etched area only where bracket to be bonded.[10] If the etched area is large, the adhesive can later dissolve when in contact with acidic soft drinks, demineralization can occur.

The findings from this study indicated that the enamel-bracket bond strength in the conventional Transbond™ XT groups was significantly higher than in the Transbond™ Plus SEP groups. On the contrary, previous *in vitro* studies showed that Transbond™ Plus SEP provided similar or higher bond strength than did conventional etch-and-rinse adhesives.[26-29] Nonetheless, the results from short-term clinical studies were still contradictory.[30-33] A clinical trial over an 18-month period found that the failure rates of Transbond™ XT system and Transbond™ Plus SEP were not significantly different.[3] However, this clinical trial did not follow the manufacturer's directions in terms of the application method of Transbond™ Plus SEP. The investigators applied the self-etch primer with a rubbing motion onto enamel for 10 - 15 seconds instead of for three seconds, as recommended. Because of the differences in bonding techniques, research methods, and duration of studies, it is difficult to compare the success rates of adhesive systems between studies.

Type of soft drinks did not affect the ARI scores among the study groups. ARI value was related to the level of SBS. With higher bond strength, there was a tendency with higher ARI score. Type of adhesive may affect the ARI scores. Transbond™ XT groups providing higher bond strength comprised all level of ARI scores

(0 to 3), whereas Transbond™ Plus SEP groups scored only 0 and 1. The results was similar to the other studies.[28,29]

To the authors' knowledge, this is the first study that evaluated the effects of soft drinks on the strength of enamel-bracket bonds using self-etch adhesives. Further studies on different drinks and different adhesives on bond strength in orthodontic bracket use may be necessary.

Conclusion

In this study, there were no significant differences in SBS after exposure to Coca-Cola®, Oishi® RTD green tea, and no exposure to soft drinks (control group) when the bracket was bonded to enamel by conventional Transbond™ XT system, whereas when Transbond™ Plus SEP system was applied, Coca-Cola® showed the lowest bond strength, significantly lower than in the control. Adhesive remainings on tooth surface were similar among groups with the same adhesive. Under SEM, eroded enamel was found in teeth immersed in Coca-Cola®.

Acknowledgement

This study was supported by grants from Faculty of Dentistry, Chiang Mai University. The authors wish to thank Dr. M. Kevin O Carroll, Professor Emeritus of the University of Mississippi School of Dentistry, USA and Faculty Consultant at Faculty of Dentistry, Chiang Mai University Thailand for his assistance in the preparation of the manuscript.

References

1. Zachrisson BJ. A posttreatment evaluation of direct bonding in orthodontics. ***Am J Orthod*** 1977;71:173-89.
2. Sunna S, Rock WP. Clinical performance of orthodontic brackets and adhesive systems: a randomized clinical trial. ***Br J Orthod*** 1998;25:283-7.
3. Reis A, dos Santos JE, Loguercio AD, de Oliveira Bauer JR. Eighteen-month bracket survival rate: conventional versus self-etch adhesive. ***Eur J Orthod*** 2008;30:94-9.
4. Bishara SE, Oonsombat C, Ajlouni R, Denehy G. The effect of saliva contamination on shear bond strength of orthodontic brackets when using a self-etch primer. ***Angle Orthod*** 2002;72:554-7.
5. Cozza P, Martucci L, De Toffol L, Penco SI. Shear bond strength of metal brackets on enamel. ***Angle Orthod*** 2006;76:851-6.
6. Soderquist SA, Drummond JL, Evans CA. Bond strength evaluation of ceramic and stainless steel bracket bases subjected to cyclic tensile loading. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2006;129:175e7-12.
7. Northrup RG, Berzins DW, Bradley TG, Schuckit W. Shear bond strength comparison between two orthodontic adhesives and self-ligating and conventional brackets. ***Angle Orthod*** 2007;77:701-6.
8. Oncag G, Tuncer AV, Tosun YS. Acidic soft drinks effects on the shear bond strength of orthodontic brackets and a scanning electron microscopy evaluation of the enamel. ***Angle Orthod*** 2005;75:247-53.
9. Hobson RS, McCabe JF, Hogg SD. The effect of food simulants on enamel-composite bond strength. ***J Orthod*** 2000;27:55-9.
10. Dinçer B, Hazar S, Sen BH. Scanning electron microscope study of the effects of soft drinks on etched and sealed enamel. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2002;122:135-41.
11. Akova T, Ozkomur A, Aytutuldu N, Toroglu MS. The effect of food simulants on porcelain-composite bonding. ***Dent Mater*** 2007;23:1369-72.
12. Geladia I, Ionat-Bendat D, Ben-Mosheh S, Shapira L. Tooth enamel softening with a cola type drink and rehardening with hard cheese or stimulated saliva *in situ*. ***J Oral Rehabil*** 1991;18:501-6.
13. Steffen JM. The effects of soft drinks on etched and sealed enamel. ***Angle Orthod*** 1996;66:449-56.
14. Ulusoy C, Müjdeci A, Gökay O. The effect of herbal teas on the shear bond strength of orthodontic brackets. ***Eur J Orthod*** 2009;31:385-9.
15. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, *et al.* Buonocore memorial lecture. Adhesion to

enamel and dentin: current status and future challenges. ***Oper Dent*** 2003;28:215-35.

16. Artun J, Bergland S. Clinical trials with crystal growth conditioning as an alternative to acid-etch enamel pretreatment. ***Am J Orthod*** 1984;85:333-40.
17. Navarro R, Vincente A, Ortiz AJ, Bravo LA. The effects of two soft drinks on bond strength, bracket, microleakage, and adhesive remnant on intact and sealed enamel. ***Eur J Orthod*** 2011;33:60-5.
18. Hall AF, Buchanan CA, Millett DT, Creanor SL, Strang R, Foye RH. The effect of saliva on enamel and dentine erosion. ***J Dent*** 1999;27:333-9.
19. Meurman JH, Rytömaa I, Kari K, Laakso T, Murtomaa H. Salivary pH and glucose after consuming various beverages, including sugar-containing drinks. ***Caries Res*** 1987;21:353-9.
20. Borjian A, Ferrari CC, Anouf A, Touyz LZ. Pop-cola acids and tooth erosion: an *in vitro, in vivo,* electron-microscopic, and clinical report. ***Inter J Dent*** 2010; doi:10.1155/2010/957842.
21. Grando LJ, Tames DR, Cardoso AC, Gabilan NH. *In vitro* study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in deciduous teeth analysed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy. ***Caries Res*** 1996;30:373-8.
22. Hughes JA, West NX, Parker DM, van den Braak MH, Addy M. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, *in vitro*. ***J Dent*** 2000;28:147-52.
23. Brunton PA, Hussain A. The erosive effect of herbal tea on dental enamel. ***J Dent*** 2001;29:517-20.
24. Phelan J, Rees J. The erosive potential of some herbal teas. ***J Dent*** 2003;31:241-6.
25. Tahmassebj JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curzon ME. Soft drinks and dental health: a review of the current literature. ***J Dent*** 2006;34:2-11.
26. Arnold RW, Combe EC, Warford JH Jr. Bonding of stainless steel brackets to enamel with a new self-etching primer. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2002;122:274-6.
27. Buyukyilmaz T, Usumez S, Karaman AI. Effect of self-etching primers on bond strength--are they reliable? ***Angle Orthod*** 2003;73:64-70.
28. Dorminey JC, Dunn WJ, Taloumis LJ. Shear bond strength of orthodontic brackets bonded with a modified 1-step etchant-and-primer technique. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2003;124:410-3.
29. Bishara SE, Oonsombat C, Soliman MM, Warren JJ, Laffoon JF, Ajlouni R. Comparison of bonding time and shear bond strength between a conventional and a new integrated bonding system. ***Angle Orthod*** 2005;75:237-42.
30. Ireland AJ, Knight H, Sherriff M. An *in vivo* investigation into bond failure rates with a new self-etching primer system. ***Am J Orthod Dentofacial Orthop*** 2003;124:323-6.
31. Aljubouri YD, Millett DT, Gilmour WH. Six and 12 months' evaluation of a self-etching primer versus two-stage etch and prime for orthodontic bonding: a randomized clinical trial. ***Eur J Orthod*** 2004;26:565-71.
32. dos Santos JE, Quioca J, Loguercio AD, Reis A. Six-month bracket survival with a self-etch adhesive. ***Angle Orthod*** 2006;76:863-8.
33. Manning N, Chadwick SM, Plunkett D, Macfarlane TV. A randomized clinical trial comparing 'one-step' and 'two-step' orthodontic bonding systems. ***J Orthod*** 2006;33:276-83.

Original Article

Stainability of Esthetic Restorative Materials after Cyclic Immersion in Various Beverages

Saijai Tanthanuch[1] and Boonlert Kukiattrakoon[2]

[1]Department of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla Thailand

[2]Department of Conservative Dentistry and Dental Materials Research Unit, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla Thailand

Correspondence to:

Boonlert Kukiattrakoon, Department of Conservative Dentistry and Dental Materials Research Unit, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla Thailand Tel: 074-287703 Fax: 074-429877 E-mail: boonlert.k@psu.ac.th

Abstract

The objective of this study was to investigate the stainability effects of five beverages (apple cider, orange juice, Coca-Cola, coffee, and beer) on nanohybrid resin composite and giomer. Fifty specimens of each resin composite and giomer were prepared. Before immersion, baseline data of the color values were recorded. Five groups of discs (N = 10) were alternately immersed in 25 mL of each beverage for 5 seconds and in 25 mL of artificial saliva for 5 seconds for 10 cycles. Specimens were then stored in artificial saliva for 24 hours. This process was repeated everyday for 28 days. After immersion, specimens were evaluated and data were analyzed by two-way repeated ANOVA and Tukey's HSD (α = 0.05). Color changes ($\Delta E^* > 3.3$) in both materials were significantly found after being immersed in the Coca-Cola, coffee, and orange juice groups ($p < 0.05$). In conclusion, the stainability effect of these beverages on both of the restorative materials also depended upon the chemical composition of the restorative materials and beverages.

Key words: Beverage; Giomer; Resin composite; Stainability

Received Date: Jul 4, 2014, Accepted Date: Jan 6, 2015

Introduction

New classes of resin-based composites, so-called nanocomposites, have been developed and marketed during recent years. They are becoming popular because they combine physical, mechanical and esthetic properties.[1-3] Nano particles were inserted into resin-based composites in order to provide high wear resistance, reduce polymerization shrinkage and to improve esthetic value to the restorations with a superior polish.[1,2] Nanohybrid resin composites are used routinely for restoring both anterior and posterior teeth because of their ease of handling, esthetic qualities, superior polish, and the improved optical characteristics are suitable for anterior restorations. Their agglomerated nanoclusters interspersed with microsized particles also give it a very acceptable wear characteristic and good mechanical strength suitable for posterior restorations.[1-3]

Giomer is the latest type of glass ionomer-composite hybrid material, in which the chemical composition includes pre-reacted glass filler and an organic-resin matrix.[4,5] The giomer composed of pre-reacted glass fillers (ranges between 0.01 - 5 μm) is derived from the complete or partial reaction of ion-leachable fluoroaluminosilicate glasses with polyalkenoic acids in water before being interfaced with the organic matrix.[4,5] The pre-action can involve only the surface of the glass particles (called surface pre-reacted glass ionomer or S-PRG) or almost the entire particle (termed fully pre-reacted glass ionomer or F-PRG).[6] Coupling agents bond the inorganic fillers to the resin matrix and catalysts are added to initiate a polymerized material, thus the giomer is light-activated with a blue light wavelength of 470 nm. The giomer is easy to handle, releases and recharges fluoride,[7] and has better polishability than conventional glass ionomers,[8] yet cannot chemically bond to the tooth structure.

Esthetic failure is one of the most common reasons for replacement of a restoration. One of the main factors that affect the longevity of esthetic restorations is the discoloration of restorations. Discoloration of esthetic restorative materials may be caused by intrinsic or extrinsic factors.[9,10] The intrinsic factors involve the discoloration of the esthetic restorative material by itself. Chemical discoloration has been attributed to a change or oxidation in the amine accelerator of the polymerization of resin.[11,12] Extrinsic factors, such as adsorption or absorption of stains, may cause discoloration of esthetic restorative materials.[13] Previous studies reported that coffee, Coca-Cola, red wine, and tea may affect the color stability of resin composites and giomers.[14-17] Moreover, consumption of acidic food, fruit juices, soft drinks, coffee, tea or wine can result in surface damage and a decrease in hardness, and a decrease in esthetic quality and other properties of resin composites and giomers.[18-20]

Esthetic color stability and discoloration properties of nanohybrid resin composite and giomer restoratives employing PRG technology are still not widely available in dental literature. Only a few studies have reported effects of apple cider, orange juice, Coca-Cola, coffee, and beer on stains of nanohybrid resin composites and giomers. In addition, previous studies[15-17] presented continuous immersion of the resin composite in the selected beverages. This study was thus designed to alternate immersion of nanohybrid resin composites and giomers in various beverages over a longer time period. Therefore, the objectives of this study were to compare the stainability effects and titratable acidity of various beverages (apple cider, orange juice, Coca-Cola, coffee, and beer) on nanohybrid resin composites and giomers. The null hypothesis was that there would be no stainability difference in the nanohybrid resin composites and giomers after the immersion period in the different beverages tested.

Materials and Methods

Specimen preparations

The materials evaluated in this present study and their compositions are shown in Table 1. Fifty disc-shaped specimens of each nanohybrid resin

composite and giomer (shade A2) were prepared in a polytetrafluoroethylene cylindrical mold (10.0 mm in diameter and 2.0 mm in thickness) on a glass plate. The cylindrical mold was covered with a mylar matrix strip. A second glass plate was placed over the mylar strip. A static load of approximately 200 g was applied to extrude excess resin composite (and giomer) and to obtain a smooth and flat surface on each specimen. The specimens were then polymerized for 40 s with a light-activated polymerization unit (Elipar 2500, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA). The light intensity was verified with a measuring device (Cure Rite, L.D. Caulk, Milford, DE, USA). After polymerization, the mylar strip and the glass plate on the top and bottom of the mold were removed, and the specimen was removed from the cylindrical mold. No mechanical preparation or abrasions of the specimens were performed.

Table 1 *Materials used in this study*

Material	Product	Manufacturer	Composition		Average particle size (μm)
			Matrix	Filler	
Nanohybrid resin composite	Premise	Kerr Corp., Orange, CA, USA	Bis-EMA, UDMA, TEGDMA	Prepolymerized filler, barium glass, silica	0.4
Giomer	Beautifil II	Shofu Inc., Kyoto, Japan	Bis-GMA, TEGDMA, catalyst	S-PRG, Fluoroboroalumino-silicate glass	1.0

Bis-EMA: Ethoxylated bisphenol A dimethacrylate; UDMA: Urethane dimethacrylate;
TEGDMA: Triethyleneglycol dimethacrylate; Bis-GMA: Bisphenol-A glycidyl methacrylate;
S-PRG: Surface pre-reacted glass ionomer

The pH and titratable acidity measurements

Five beverages were used in this study including apple cider, orange juice, Coca-Cola, coffee, and beer (Table 2). The pH of each beverage was determined using a pH meter (Orion 900A, Orion Research, Boston, MA, USA). Ten pH readings of each beverage were obtained so as to give a mean pH measurement for each beverage.

To verify titratable acidity (buffering capacity),[21] 20 mL of each beverage was added by 0.5 mL increments of 1 mol/L sodium hydroxide (NaOH). The amount of NaOH required to reach pH levels of 5.5, 7.0, and 10.0 were recorded. The titrations for each beverage were also repeated ten times to achieve a mean value.

Beverage immersion and color measurement

Fifty discs of each nanohybrid resin composite and giomer were divided into 5 groups of 10 specimens. For baseline color measurement, each group was subjected to a spectrophotometer (ColorQuest XE, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, USA) for assessing the Commission Internationale de l'Eclairege L*a*b* (CIELAB) color. L* indicates the lightness of the color measured from black (L* = 0) to white (L* = 100), a* determines the color in the red (a* > 0) and green (a* < 0) dimension, and b* determines the color in the yellow (b* > 0) and blue (b* < 0) dimension. Three measurements were obtained from each disc and the mean L*, a* and b* values were used for the final analyses.

Table 2 *Tested beverages used in the present study*

Beverage	Product	Composition	Manufacturer
Apple cider	Heinz	100 % Apple juice diluted with water to 5% acidity	H.J. Heinz company, Sharpsburg, PA, USA
Orange juice	Harvey Fresh	100 % Orange juice	Harvey Fresh (1994) Ltd., Western Australia
Coca-Cola	Coke	Carbonated water, 10 % sugar, flavors	Thainamtip, Bangkok, Thailand
Coffee	Nescafe	7.5 % Sugar, 4.4 % coffee extract, 1.9 % skimmed milk powder	Nestle (Thailand) Co., Ltd., Bangkok, Thailand
Beer	Heineken	5 % Alcohol by volume, water, malted barley, hops, yeast	Heineken N.V. Global Corporate Relations, Amsterdam, Netherlands

The specimens were then alternately immersed in 25 mL of a beverage for 5 seconds and in 25 mL of artificial saliva for 5 seconds for 10 cycles at room temperature (about 25 °C).[18] After the cyclic immersion, specimens were returned to the artificial saliva (daily changed) and kept overnight at 37 °C. The same protocol was used with the different beverages in this study everyday for 28 days consecutively. In order to maintain the original pH level of the beverages, they were refreshed daily throughout the experiment. The specimen immersion protocol simulated an individual eating acidic food, sour fruits and drinks.[18] After the immersion sequence was completed, the specimens were rinsed with deionized water, blotted dry against filter paper and subjected to post-immersion color measurement.

Overall color change (ΔE*) was calculated using the following equation: $\Delta E^* = ([\Delta L^*]^2 + [\Delta a^*]^2 + [\Delta b^*]^2)^{1/2}$. Mean ΔE* values for the experimental groups were calculated between baseline and after immersion.

Statistical analysis

The color change values (ΔE*) were subjected to two-way ANOVA and Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) for multiple comparisons (at α = 0.05).

Results

The mean pH, standard deviations (SD) and titratable acidity of beverages with 1 mol/L NaOH are shown in Table 3. Coca-Cola had the lowest pH (2.88 ± 0.03) and coffee had the highest pH (6.82 ± 0.05). The titratable acidity was lowest for Coca-Cola (10.02 ± 0.06 mL) and highest for apple cider (99.35 ± 0.06 mL). The color change values of the materials used before and after immersion are presented in Table 4. Overall, giomer had more significant color change than nanohybrid resin composite ($p < 0.05$). Coca-Cola caused the highest color change but there was no statistically significant difference in comparison with coffee and orange juice.

Table 3 *The mean pH and standard deviation (SD) and titratable acidity (volume of NaOH (mL) to bring the pH to 5.5, 7.0 and 10.0) in beverages tested*

Beverage	Mean pH ± SD	Cumulative volume of NaOH solution used to titrate to each pH (mL)		
		5.5	7.0	10.0
Apple cider	3.08 ± 0.02	91.20 ± 0.20	98.42 ± 0.09	99.35 ± 0.06
Orange juice	3.82 ± 0.03	12.79 ± 0.20	21.12 ± 0.07	24.56 ± 0.08
Coca-Cola	2.88 ± 0.03	2.69 ± 0.03	6.53 ± 0.08	10.02 ± 0.06
Coffee	6.82 ± 0.05	0	0.78 ± 0.09	10.78 ± 0.07
Beer	4.37 ± 0.04	2.82 ± 0.05	5.69 ± 0.07	12.09 ± 0.11

Table 4 *Changes in overall color (ΔE*) from baseline of nanohybrid resin composite and giomer*

Material and beverage	Nanohybrid resin composite	Giomer
Apple cider	2.5 ± 0.2^{b}	$2.9 \pm 0.3^{*,b}$
Orange juice	4.3 ± 0.2^{a}	$4.7 \pm 0.3^{*,a}$
Coffee	4.1 ± 0.3^{a}	$4.5 \pm 0.2^{*,a}$
Coca-Cola	4.4 ± 0.2^{a}	$4.9 \pm 0.3^{*,a}$
Beer	2.4 ± 0.3^{b}	$2.8 \pm 0.2^{*,b}$

* indicate statistically significant difference (in column) between nanohybrid resin composite and giomer.

^{a,b} Different superscript letters (in row) state statistically significant difference between various beverages ($p < 0.05$).

Discussion

From the data results, the null hypothesis of this present study should be rejected. This study showed that soaking in tested beverages significantly increased stainability on nanohybrid resin composites and giomers ($p < 0.05$), which is similar to previous studies.[22,23]

Color change determination in dentistry can be evaluated by visual and instrumental techniques.[24] This present study used a spectrophotometer and the CIE L*a*b* coordinates system. It can potentially eliminate subjective errors in color assessment. The spectrophotometer is more reliable than the naked eye in measuring slight color change (ΔE) in objects on flat surfaces with repeatability, sensitivity, and objectivity. When ΔE is greater than 3.3 the results are clinically unacceptable.[25,26] The results showed that Coca-cola, coffee, and orange juice caused a ΔE greater than 3.3 for both resin composite and giomer.

Giomer was more susceptible to staining than resin composite. There are many factors for discoloration of esthetic restorative materials including the pH, titratable acidity, degree of conversion

of resin polymerization, and also food colorant absorption/penetration may contribute to the amount of staining observed.[9,10] Under acidic conditions over time, the esthetic restorative materials presented a surface roughness with voids due to the softening of the resin matrix or hydrolysis of the silane coupling agent that would cause dislodgement of filler particles, resulting in facilitating adsorption of stains.[23] However, the result of this present study showed that color changes after immersion in the various beverages did not relate to the pH of the beverages alone. Coca-cola had the lowest pH (pH 2.88), but produced less color change than coffee, which was mildly acidic (pH 6.82). The pH of the beverage reflects the strength of acidity, while titratable acidity shows the total amount of acid present (total acidity) and is measured by titration against a standard solution of sodium hydroxide. There is no direct relation between pH and total acidity. Coca-Cola is composed of carbonic acid. Although Coca-Cola had the lowest pH which might damage the surface integrity of the materials, it did not produce as much discoloration as coffee, which may have been due to a lack of a yellow colorant in Coca-Cola. In contrast, coffee contains yellow colorants which caused discoloration of the materials by adsorption and absorption. The absorption and penetration of colorants into the organic phase of the materials were probably due to compatibility of the polymer phase with the yellow colorants of coffee.[9,27] Orange juice and apple cider is composed of citric acid, while beer is composed of alcohol. The presence of alcohol may have softened the resin and consequently may have promoted an irreversible degradation of the material.[19]

Moreover, staining ability of resin composites and giomers might be attributed to the degree of water sorption and hydrophilicity of their resin matrix. The resin composite can direct absorbed water and other fluids in the resin matrix by expanding and plasticizing the resin component, hydrolyzing the silane, and causing a microcrack formation.[23,28] The microcracks or the interfacial gaps at the interface between the filler and matrix allow stain penetration and discoloration.[23,28] Hydrophilic materials have a higher degree of water sorption and a relatively higher staining ability than hydrophobic materials.[9] In this study, resin matrixes of resin composite (Premise, Kerr Corp.) and giomer (Beatifil II, Shofu Dental Corp.) containing Bis-GMA and TEGDMA are considered to be susceptible to staining due to their increased hydrophilicity.[29] Giomer provides more water absorption than resin composite because of the presence of pre-reacted glasspolyacid zone, which are also responsible for generating water sorption,[30] resulting in more ΔE values than resin composite in this present study.

Additionally, color stainability of resin composites and giomers has also been related to the degree of conversion of resin monomers. Incomplete polymerized resin composites and giomers have greater susceptibility to discoloration due to the larger amounts of residual mononers available to form colored degraded products.[31] The degree of conversion is influenced by Bis-GMA content and co-monomer types with TEGDMA mixtures resulting in higher conversion than BisEMA (Ethoxylated Bisphenol-A Dimethacrylate).[32] Also the roughened surfaces are easily stained by mechanical absorption.[23]

However, it must be noted that there are some limitations in this present study. Actual staining of esthetic restorative materials in the oral cavity would very likely require a longer period of time due to the intermittent nature of stain exposure and the dilution effects of saliva and other fluids. The specimens in this study were not also polished as in clinical situations where the restorations have to be polished afterward. In addition, the present study evaluated only *in vitro* effects. Further studies are required to examine the effects of these beverages *in vivo*.

Conclusion

Within the limitations of this study, the following conclusions could be drawn. Coca-Cola, coffee, and

orange juices significantly affected the stainability of both materials by the end of the 28 days immersion period. In addition, giomer showed significantly greater color change than nanohybrid resin composite. The effect of these beverages on the color changes of both restorative materials also depended upon the chemical composition of the restorative materials and beverages.

Acknowledgement

This work was supported by the Faculty of Dentistry Research Fund, Prince of Songkla University.

References

1. Turssi CP, Saad JR, Duarte SL Jr, Rodrigues AL Jr. Composite surfaces after finishing and polishing techniques. ***Am J Dent*** 2000;13:136-8.
2. Mitra SB, Wu D, Holmes BN. An application of nanotechnology in advanced dental materials. ***J Am Dent Assoc*** 2003;134:1382-90.
3. Moszner N, Klapdohr S. Nanotechnology for dental composites. ***Int J Nanotechnol*** 2004;1:130-56.
4. Gordan VV, Mondragon E, Watson RE, Garvan C, Mjör IA. A clinical evaluation of a self-etching primer and a giomer restorative material: results at eight years. ***J Am Dent Assoc*** 2007;138:621-7**.**
5. Sunico MC, Shinkai K, Katoh Y. Two-year clinical performance of occlusal and cervical giomer restorations. ***Oper Dent*** 2005;30:282-9.
6. Lien W, Vandewalle KS. Physical properties of a new silorane-based restorative system. ***Dent Mater*** 2010;26:337-44.
7. Naoum S, Ellakwa A, Martin F, Swain M. Fluoride release, recharge and mechanical property stability of various fluoride-containing resin composites. ***Oper Dent*** 2011;36:422-32.
8. Yap AU, Mok BY. Surface finish of a new hybrid aesthetic restorative material. ***Oper Dent*** 2002;27:161-6.
9. Um CM, Ruyter IE. Staining of resin-based veneering materials with coffee and tea. ***Quintessence Int*** 1991;22:377-86.
10. Yannikakis SA, Zissis AJ, Polyzois GL, Caroni C. Color stability of provisional resin restorative materials. ***J Prosthet Dent*** 1998;80:533-9.
11. Ruyter IE. Composites-characterization of composite filling materials: reactor response. ***Adv Dent Res*** 1988;2:122-9.
12. Asmussen E. Factors affecting the color stability of restorative resins. ***Acta Odontol Scand*** 1983;41:11-8.
13. Türkün LS, Türkün M. Effect of bleaching and repolishing procedures on coffee and tea stain removal from three anterior composite veneering materials. ***J Esthet Restor Dent*** 2004;16:290-301
14. Al Kheraif AA, Qasim SS, Ramakrishnaiah R, Ihtesham ur Rehman. Effect of different beverages on the color stability and degree of conversion of nano and microhybrid composites. ***Dent Mater J*** 2013;32:326-31.
15. Yousef M, Abo El Naga A. Color stability of different restoratives after exposure to coloring agents. ***J Am Sci*** 2012;8.20-6.
16. Ertaş E, Güler AU, Yücel AC, Köprülü H, Güler E. Color stability of resin composites after immersion in different drinks. ***Dent Mater J*** 2006;25:371-6.
17. Topcu FT, Sahinkesen G, Yamanel K, Erdemir U, Oktay EA, Ersahana S. Influence of different drinks on the colour stability of dental resin composites. ***Eur J Dent*** 2009;3:50-6.
18. Wongkhantee S, Patanapiradej V, Maneenut C, Tantbirojn D. Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. ***J Dent*** 2006;34:214-20.
19. Tanthanuch S, Patanapiradej V. Effect of Thai wine on surface roughness and corrosion of various tooth-coloured filling materials. ***J Dent Assoc Thai*** 2009;52:100-8.
20. Tanthanuch S, Kukiattrakoon B, Siriporananon C, Ornprasert N, Mettasitthikorn W, Likhitpreeda S, *et al*. The effect of different beverages on surface hardness of nanohybrid resin composite and giomer. ***J Conserv Dent*** 2014;17:261-5.
21. Cairns AM, Watson M, Creanor SL, Foye RH. The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion. ***J Dent*** 2002;30:313-7.
22. Tanthanuch S, Kukiattrakoon B, Kedrak P. The effect of green and white tea on stainability of resin composites. ***CU Dent J*** 2011;34:169-80.
23. Bagheri R, Burrow MF, Tyas M. Influence of food-simulating

solutions and surface finish on susceptibility to staining of aesthetic restorative materials. ***J Dent*** 2005;33:389-98.

24. Yap AU, Tan KB, Bhole S. Comparison of aesthetic properties of tooth-colored restorative materials. ***Oper Dent*** 1997;22:167-72.
25. Inokoshi S, Burrow MF, Kataumi M, Yamada T, Takatsu T. Opacity and color changes of tooth-colored restorative materials. ***Oper Dent*** 1996;21:73-80.
26. Ruyter IE, Nilner K, Moller B. Color stability of dental composite resin materials for crown and bridge veneers. ***Dent Mater*** 1987;3:246-51.
27. van Groeningen G, Jongebloed W, Arends J. Composite degradation *in vivo*. ***Dent Mater*** 1986;2:225-7.
28. Mair LH. Staining of *in vivo* subsurface degradation in dental composites with silver nitrate. ***J Dent Res*** 1991;70:215-20.
29. Kalachandra S, Turner DT. Water sorption of polymethacrylate networks: bis-GMA/TEGDM copolymers. ***J Biomed Mater Res*** 1987;21:329-38.
30. McCabe JF, Rusby S. Water absorption, dimensional change and radial pressure in resin matrix dental restorative materials. ***Biomaterials*** 2004;25:4001-7.
31. Samra AP, Perereira SK, Delgado LC, Borges CP. Color stability evaluation of aesthetic restorative materials. ***Braz Oral Res*** 2008;22:205-10.
32. Gonçalves F, Kawano Y, Pfeifer C, Stansbury JW, Braga RR. Influence of BisGMA, TEGDMA, and BisEMA contents on viscosity, conversion, and flexural strength of experimental resins and composites. ***Eur J Oral Sci*** 2009;117:442-6.