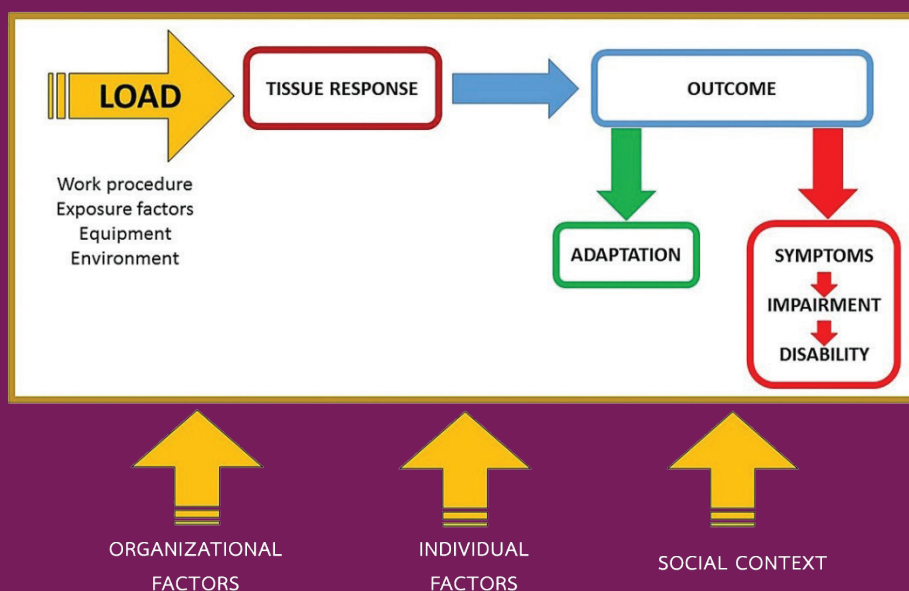




วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

Journal of the Dental Association of Thailand

ปีที่ 66 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2559 / Volume 66 Number 2 April - June 2016



- Work-Related Musculoskeletal Disorders Among Dentists
- Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Surface Microhardness of Human Enamel
- Comparative Cytotoxicity and Biocompatibility of Two Aluminum Chloride Local Hemostatic Agents
- Dimensional Accuracy and Surface Detail Reproduction of Polyvinylsiloxanether Impression Material Tested in Dry, Moist and Wet Conditions
- Effect of Herbal Toothpaste Containing *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* on dental Plaque and gingivitis
- Effectiveness of Caries Infiltration and CPP-ACP Containing Paste on Color Change and Surface Hardness of Artificial White Spot Enamel Lesions



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์
JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND



ทันตแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

Advisory Board

Lt. Gen. Phisal	Thepsithar
Asst. Prof. Anonknart	Bhakdinaronk
Dr. Charmary	Reanamporn
Assoc. Prof. Porjai	Ruangsrri
Assoc. Prof. Surasith	Kiatpongsan
Dr. Wantana	Puthipad
Dr. Werawat	Satayanurug
Prof. Dr. Waranun	Buajeeb
Dr. Prinya	Pathomkulmai

Board of Directors 2016 - 2018

President	Dr. Adirek	S.Wongsa
President Elect	Dr. Chavalit	Karnjanaopaswong
1 st Vice-President	Asst. Prof. Dr. Sirivimol	Srisawasdi
2 nd Vice-President	Assoc. Prof. Dr. Siriruk	Nakornchai
Secretary-General	Prof. Dr. Prasit	Pavasant
Treasurer	Assoc. Prof. Poranee	Berananda
Editor	Dr. Ekamon	Mahapoka
Executive Committee	Clinical Prof. Pusadee	Yotnuengnit
	Lt. Gen. Nawarut	Soonthornwit
	Assoc. Prof. Wacharaporn	Tasachan
	Dr. Somchai	Suthirathikul
	Asst. Prof. Ekachai	Chunhacheevachaloke
	Asst. Prof. Bundhit	Jirajariyavej
	Dr. Prae	Chittinand
	Dr. Kanit	Dhanesuan
	Assoc. Prof. Dr. Patita	Bhuridej
	Asst. Prof. Piriya	Cherdsatirakul
	Dr. Sutee	Suksudaj
	Assoc. Prof. Dr. Teerasak	Damrongrungruang

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 Dejnakintra
Prof. Chainut Chongruk
Special Prof. Sitthi S Srisopark
Assoc. Prof. Porjai Ruangsri
Assist. Prof. Phanomporn Vanichanon
Assoc. Prof. Dr. Patita Bhuridej

Editor

Dr. Ekamon Mahapoka

Associate Editors

Prof. Dr. Prasit Pavasant
Assoc. Prof. Dr. Siriruk Nakornchai

Editorial Board

Assoc. Prof. Dr. Chaiwat Maneenut, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Waranuch Pitiphat, Khon Kaen University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Nita Viwattanatipa, Mahidol University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Ponlatham Chaiyarit, Khon Kaen University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Lertrit Sarinnaphakorn, Thammasat University, Thailand
Prof. Dr. Suttichai Krisanaprakornkit, Chiang Mai University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Paiboon Techalertpaisarn, Chulalongkorn University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Somsak Mitirattanakul, Mahidol University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Kittirongruang, Chulalongkorn University, Thailand
Assoc. Prof. Boonlert Kukiattrakoon, Prince of Songkla University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Chootima Ratisoontorn, Chulalongkorn University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Oranat Matungkasombut, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Vanthana Sattabanasuk, Mahidol University, Thailand
Dr. Sutee Suksudaj, Thammasat University, Thailand
Dr. Aroonwan Lam-ubol, Srinakharinwirot University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Tewarit Somkotra, Chulalongkorn University, Thailand
Dr. Thantrira Porntaveetus, Chulalongkorn University, Thailand
Prof. Dr. Antheunis Versluis, The University of Tennessee Health Science Center, USA.
Assoc. Prof. Dr. Hiroshi Ogawa, Niigata University, JAPAN
Assoc. Prof. Dr. Anwar Merchant, University of South Carolina, USA.
Dr. Brian Foster, NIAMS/NIH, USA.
Dr. Ahmed Abbas Mohamed, University of Warwick, UK.

Editorial Staff

Thatchutha Saengchan
Pimpanid Laomana

Manager

Assoc. Prof. Poranee Berananda

Journal published trimonthly. Foreign subscription rate US\$ 200 including postage.

Publisher and artwork: Q - Print Co., Ltd.

Please send manuscripts to Dr. Ekamon Mahapoka

Mailing address: 71 Ladprao 95 Wangtonglang Bangkok 10310, Thailand E-mail: jdat.editor@gmail.com



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

จดหมายจากสภาราษฎร

สวัสดีท่านสมาชิกวิทยาสารทันตแพทยศาสตร์ทุกท่านครับ เรากลับมาพบกันอีกครั้งเป็น ฉบับที่ 2 ของปี พ.ศ.2559 ฉบับนี้น่าจะถือว่าเป็นฉบับที่ร้อนแรงมากเนื่องจากมาพร้อมกับสภาพอากาศของบ้านเราที่ร้อนจัดทำลายสถิติในรอบหลาย ๆ ปีที่ผ่านมา ถึงแม้ว่าอากาศร้อนจะเป็นอุปสรรคในการทำงานหลาย ๆ อย่างแต่ผมเชื่อว่าคงไม่เป็นอุปสรรคในการเขียนบทความแต่อย่างใด เพราะมีบทความที่ส่งเข้ามาจำนวนไม่น้อยในช่วงที่ผ่านมาซึ่งการเขียนบทความเป็นส่วนหนึ่งที่สามารถนับเป็นหน่วยกิจกรรมการศึกษาต่อเนื่องของทันตแพทยสภาได้ หากท่านสมาชิกต้องการส่งบทความทางกองบรรณาธิการวิทยาสารฯ ก็มีความยินดีและขอขอบคุณทุกท่านที่ส่งบทความเข้ามาเพื่อเผยแพร่ให้กับวงการวิชาชีพเราและยินดีน้อมรับคำติชมเพื่อพัฒนาให้วิทยาสารฯ ที่ทุกท่านกำลังอ่านอยู่นี้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อวิชาชีพทันตแพทย์

สำหรับฉบับนี้ประกอบด้วยบทความทั้งสิ้นจำนวน 6 บทความ โดยเป็นบทความปริทัศน์ 1 บทความและบทนิพนธ์ต้นฉบับ 5 บทความ ตามลำดับดังนี้ 1) อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อของทันตแพทย์ 2) ผลของสารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตต่อความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์ 3) Comparative Cytotoxicity and Biocompatibility of Two Aluminum Chloride Local Hemostatic Agents 4) การคงเสถียรภาพเชิงมิติ และการลอกรายละเอียดของวัสดุพิมพ์ปากพอลิไวไนลไซลอคเซนอีเทอร์ในสภาวะแห้งชื้นและเปียก 5) Effect of Herbal Toothpaste Containing *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* on Dental Plaque and Gingivitis และ 6) Effectiveness of Caries Infiltration and CPP-ACP Containing Paste on Color Change and Surface Hardness of Artificial White Spot Enamel Lesions

หากท่านสมาชิกมีข้อเสนอแนะหรือข้อคิดเห็นประการใดอันจะทำให้วิทยาสารฯ ของวิชาชีพเรามีคุณภาพยิ่งขึ้นขอได้โปรดส่งมายังกองบรรณาธิการได้ตลอดเวลาครับ

ทพ. ดร. เอกมน มหาโสภา
สภาราษฎร

สำหรับหน้าที่เป็นสี โปรดเข้าชมได้ที่ <http://www.jdat.org>

For high quality coloured figures, please refer to <http://www.jdat.org>



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 66 ฉบับที่ 2 เมษายน – มิถุนายน พ.ศ. 2559

บทความปริทัศน์

อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อของทันตแพทย์
นิธิมา เสริมสุธิอนุวัฒน์
พรชัย สิทธิศรีณกุล

บทวิทยากร

ผลของสารคาซีนฟอสโฟเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียม
ฟอสเฟตต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์
กรกมล สุขจิตต์
ฉัญญรัตน์ เด่นทองพล
ภาวนา จางวางสิทธิ์
รฐกร พุทธเจริญ

Comparative Cytotoxicity and Biocompatibility of Two Aluminum Chloride Local Hemostatic Agents

Pintu-on Chantarawaratit
Pravej Serichetaphongse
Watcharaporn Tasachan
Pasutha Thunyakitpisal

การคงเสถียรภาพเชิงมิติ และการลอกรายละเอียดของวัสดุ
พิมพ์ปากพอลิไวนิลไซลอกเซนอีเทอร์ในสภาวะแห้ง ชื้นและเปียก
อุมาพร วิมลกิตติพงศ์

Effect of Herbal Toothpaste Containing *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* on Dental Plaque and Gingivitis

Supranee Benjasupattananan
Thera Rojassawasathien
Piyawan Jirayusakamol
Yanakorn Siriyeum
Jenjira Thechathaweewan
Wanlada Koheng
Chayanan Sirawuttipong

Contents

Volume 66 Number 2 April – June 2016

Review Article

72 Work-Related Musculoskeletal Disorders Among Dentists

Nithimar Sermsuti-anuwat
Pornchai Sithisarakul

Original Article

81 Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Surface Microhardness of Human Enamel

Kornkamon Sukjit
Thunyarat Denkongphol
Pavana Jangvangsit
Rathagorn Putthacharoen

94 Comparative Cytotoxicity and Biocompatibility of Two Aluminum Chloride Local Hemostatic Agents

Pintu-on Chantarawaratit
Pravej Serichetaphongse
Watcharaporn Tasachan
Pasutha Thunyakitpisal

109 Dimensional Accuracy and Surface Detail Re- production of Polyvinylsiloxanether Impression Material Tested in Dry, Moist and Wet Conditions

Umaporn Vimonkittipong

124 Effect of Herbal Toothpaste Containing *Piper* *betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* on Dental Plaque and Gingivitis

Supranee Benjasupattananan
Thera Rojassawasathien
Piyawan Jirayusakamol
Yanakorn Siriyeum
Jenjira Thechathaweewan
Wanlada Koheng
Chayanan Sirawuttipong



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 66 ฉบับที่ 2 เมษายน – มิถุนายน พ.ศ. 2559

บทวิทยากร

Effectiveness of Caries Infiltration and CPP-ACP
Containing Paste on Color Change and Surface
Hardness of Artificial White Spot Enamel Lesions

Patchareeya Pintanon

Vanthana Sattabanasuk

Danuchit Banomyong

Contents

Volume 66 Number 2 April – June 2016

Original Article

133 Effectiveness of Caries Infiltration and CPP-ACP
Containing Paste on Color Change and Surface
Hardness of Artificial White Spot Enamel Lesions

Patchareeya Pintanon

Vanthana Sattabanasuk

Danuchit Banomyong

Front cover image:

Conceptual model of factors that potentially contribute to musculoskeletal disorders.
(See *Sermutsi-anuwat* and *Sithisarankul*, page 74 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 include 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 disadvantages 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 American Dental 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, Dam DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and maxillofacial pathology. Philadelphia: WB Saunders; 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 Workshop 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, Tungpisi-tyoitn 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.htm>Article.

- 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>.

Work-Related Musculoskeletal Disorders Among Dentists

Nithimar Sermsuti-anuwat¹ and Pornchai Sithisarankul¹

¹Department of Preventive and Social Medicine, Faculty of Medicine Chulalongkorn University, Thailand

Correspondence to:

Nithimar Sermsuti-anuwat. Department of Preventive and Social Medicine, Faculty of Medicine Chulalongkorn University
1873 Rama 4 Rd, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand Tel: 02-2527864 E-mail: nimar.or@gmail.com

Abstract

The health problems concerning muscle, tendons, ligaments, skeleton, cartilage and nerves which are inclusively termed “Work-related musculoskeletal disorders” are induced by normal performing dental work activities, could lead to temporary disorders or permanent disabilities. The potential occupational risk factors for musculoskeletal disorders are repetition, force, vibration, stress and posture. This article also introduces some chairside stretching exercises for strengthen the muscles and minimizing the risk of such disorders.

Key words: Dentist; Musculoskeletal disorder; Occupational health

Received Date: Nov 16, 2015, Accepted Date: Mar 7, 2016

doi: 10.14456/jdat.2016.7

อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อของทันตแพทย์

นิธินา เสริมสุธีอนุวัฒน์¹ และ พรชัย สิทธิศรีธนย์กุล¹

¹ ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

นิธินา เสริมสุธีอนุวัฒน์ ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 1873 ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330 โทรศัพท์: 02-2527864 อีเมล: nimar.or@gmail.com

บทคัดย่อ

อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ ที่เกี่ยวข้องกับการทำงาน (Work-related musculoskeletal disorders) เป็นความผิดปกติของกล้ามเนื้อ เส้นเอ็น กล้ามเนื้อ กระดูกโครงร่าง หลอดเลือดเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูก และเส้นประสาท อันเนื่องมาจากการทำงาน สามารถนำไปสู่อาการผิดปกติชั่วคราว หรือความพิการอย่างถาวรปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อจากการประกอบอาชีพทันตแพทย์คือ การทำซ้ำ การออกแรง ความสั่นสะเทือน ความเครียด และ ท่าทางที่ใช้ในการทำงาน บทความนี้นำเสนอ ท่าผ่อนคลายกล้ามเนื้อข้างแก้ม เพื่อเพิ่มความแข็งแรงของกล้ามเนื้อและลดความเสี่ยงที่จะเกิดความผิดปกติดังกล่าวให้เหลือน้อยที่สุด

คำสำคัญ: ทันตแพทย์; อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ; อาชีวนามัย

บทนำ

อาชีพทันตแพทย์เป็นอาชีพหนึ่งซึ่งมีความเสี่ยงต่อการเกิดอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ อันเนื่องมาจากการปฏิบัติงาน อาการปวดหลัง ปวดคอ ปวดไหล่ ที่เกิดในทันตแพทย์นั้น ถ้าเกิดอาการปวดดังกล่าวซ้ำ ๆ สะสมเป็นระยะเวลานานก็สามารถส่งผลให้เกิดการบาดเจ็บเรื้อรังต่อกล้ามเนื้อ และกระดูกโครงร่าง เป็นสาเหตุสำคัญให้ต้องยุติอาชีพทันตแพทย์ก่อนเวลาอันควร

อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อที่เกี่ยวข้องกับการทำงาน (Work-related musculoskeletal disorders)

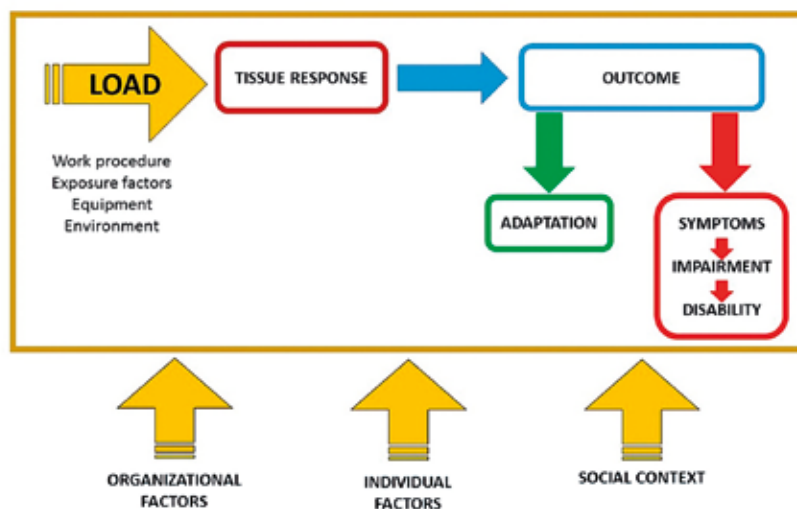
องค์การอนามัยโลก (WHO) ให้คำจำกัดความคำว่า Work-related musculoskeletal disorders หรืออาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อที่เกี่ยวข้องกับการทำงานว่า หมายถึง ปัญหาสุขภาพอันเนื่องมาจากการทำงานของระบบภายในร่างกายที่สามารถเคลื่อนไหวได้ด้วยตนเอง เช่น กล้ามเนื้อ เส้นเอ็น กระดูกสันหลัง กระดูกอ่อน หลอดเลือดเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูก และเส้นประสาท รูปแบบของความเจ็บปวดของกล้ามเนื้อ และ

กระดูกโครงร่างเริ่มจาก มีอาการผิดปกติเพียงเล็กน้อย มีอาการผิดปกติชั่วคราว มีอาการผิดปกติถาวร จนกระทั่งมีความพิการ¹

อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ (Musculoskeletal disorders)

อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ หรือ Musculoskeletal disorders รวมความหมายที่กว้างไปถึง อาการอักเสบ และสภาวะเสื่อมที่มีผลต่อกล้ามเนื้อ เส้นเอ็น ข้อต่อ (กระดูก) ปลายประสาท และระบบเลือด รวมถึงกลุ่มอาการทางคลินิก เช่น กลุ่มอาการเส้นเอ็นอักเสบ และสภาวะอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับเส้นเอ็น ได้แก่ ปลอกเอ็นกล้ามเนื้ออักเสบ (tenosynovitis) การอักเสบในบริเวณปุ่มกระดูกเหนือข้อ (epicondylitis) กลุ่มอาการเส้นประสาทถูกบีบอัดอย่างผิดปกติ ได้แก่ กลุ่มอาการอุโมงค์ข้อมือ (carpal tunnel syndrome) กลุ่มอาการปวดหลัง สะโพกและขา ที่มีสาเหตุมาจากการกดทับ sciatic nerve (sciatica) กลุ่มอาการปวดข้อ/ข้อเสื่อม (osteoarthritis) กลุ่มอาการปวดกล้ามเนื้อ (myalgia) โดยมีอาการปวดกล้ามเนื้อบริเวณส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย พบมากในบริเวณแผ่นหลัง ลำคอ ไหล่ แขน และข้อมือ^{2,3}

ปัจจัยที่เป็นสาเหตุของอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ



รูปที่ 1 กรอบแนวคิดของปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ⁴

Figure 1 Conceptual model of factors that potentially contribute to musculoskeletal disorders⁴

จาก รูปที่ 1 แหล่งกำเนิดของแรงที่มีผลต่อระบบกล้ามเนื้อ และกระดูกโครงร่างนั้นอาจมีสาเหตุมาจากแรง (load) ที่เกิดการจากกระบวนการทำงาน ซึ่งเป็นปัจจัยทางกายภาพเช่น จากปัจจัยที่สัมผัส (exposure factors) อุปกรณ์ (equipment) และ สิ่งแวดล้อม (environment) ซึ่งส่งผลต่อเนื้อเยื่อในกล้ามเนื้อ เส้นเอ็น และข้อต่อต่าง ๆ ร่วมกับปัจจัยทางจิตสังคมอื่น ๆ เช่น ปัจจัยด้านองค์กร (organizational factors) เช่น ปริมาณภาระงานที่ได้รับผิดชอบจากหน่วยงาน ปัจจัยส่วนบุคคล (individual factors) เช่น อายุ น้ำหนัก โรคประจำตัว การสูบบุหรี่ และปัจจัยด้านบริบททางสังคม (social context) เช่น การได้รับการสนับสนุนจากเพื่อนร่วมงาน หรือครอบครัว แรงทั้งหมดนั้นจะส่งผลต่อกล้ามเนื้อทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเป็นการส่งผลในทางที่ดี เช่น การเสริมความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ ด้วยการออกกำลังกายหรือส่งผลเสียต่อกล้ามเนื้อ เช่น ก่อให้เกิดอาการปวดกล้ามเนื้อ ปวดข้อ ปวดกระดูก เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการผิดปกติ สูญเสียสมรรถภาพ และมีความพิการในที่สุด การเผชิญต่อปัจจัยที่เป็นสาเหตุของอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อนั้น

ขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพในการทำงาน การปรับตัวของคนทำงาน รวมทั้งลักษณะทางกายภาพและทางจิตใจส่วนบุคคล การลดปัจจัยที่ก่อให้เกิดอาการเจ็บกล้ามเนื้อ และกระดูกสามารถทำได้โดย การลดความเข้มข้น (intensity) ความถี่ (frequency) และช่วงระยะเวลา (duration) ในการเผชิญปัจจัยเสี่ยงที่มีแนวโน้มก่อให้เกิดอาการผิดปกติบริเวณกล้ามเนื้อและกระดูกโครงร่างได้¹⁻⁴

อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อจากการปฏิบัติงานในคลินิกทันตกรรมของทันตแพทย์

มีการศึกษาวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาจากแบบประเมินอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อด้วยตนเองของทันตแพทย์รายงานว่า ทันตแพทย์มีแนวโน้มจะมีอาการเจ็บกล้ามเนื้อและกระดูกโครงร่างที่เกิดจากการปฏิบัติงานในคลินิกทันตกรรม⁵⁻⁷ เป็นผลมาจากท่าทางการนั่งที่ไม่สมดุล ทำให้เกิดแรงกระทำต่อกล้ามเนื้อซ้ำ ๆ จนเกิดความอ่อนล้าของกล้ามเนื้อและพบว่า ตำแหน่งอวัยวะในร่างกายที่เกิดความเจ็บปวดมากที่สุดได้แก่ บริเวณแผ่นหลัง คอ และไหล่ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความชุกของอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อจากการปฏิบัติงานของทันตแพทย์

Researcher/Year	Sample	Most Painful Site (%)
Szymanska/2002 ⁸	268 Polish dentists	Lower back (60.1 %) Neck (56.3 %)
Alexopoulos <i>et al.</i> /2004 ⁹	430 Greek dentists	Low back (46 %) Neck (26 %)
Palliser <i>et al.</i> /2005 ¹⁰	413 New Zealand dentists	Lower back (63 %) Neck (49 %)
Leggat <i>et al.</i> /2006 ¹¹	285 Australian dentists	Neck (57.5 %) Lower back (53.7 %) Shoulder (53.3 %)

ตารางที่ 1 ความชุกของอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อจากการปฏิบัติงานของทันตแพทย์ (ต่อ)

Researcher/Year	Sample	Most Painful Site (%)
Pargali <i>et al.</i> /2010 ¹²	82 Iranian dentists	Lower back (28 %) Neck (12 %)
Bornsawan/2011 ¹³	360 Thai dentists	Shoulder (71.1 %) Neck (60.8 %) Back (49.7 %)
Kumar <i>et al.</i> /2013 ¹⁴	646 Indian dentists	Neck (75.74 %) Lower back (72.01 %) Shoulder (69.4 %)
Feng <i>et al.</i> /2014 ¹⁵	272 Chinese dentists	Neck (83.8 %) Shoulder (40.1 %)
Rehman <i>et al.</i> /2013 ¹⁶	137 Pakistan dentists	Lower back (57.8 %) Neck (37.5 %) Shoulder (29.6 %)
Alghadir <i>et al.</i> /2015 ¹⁷	146 Saudi Arabian dentists	Lower back (74 %)

ปัจจัยเป็นสาเหตุของอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อจากการปฏิบัติงานในคลินิกทันตกรรมของทันตแพทย์¹⁸⁻²¹

1. **Repetition** ลักษณะงานที่ซ้ำซาก หมายถึง การทำงานด้วยท่าทางที่คล้าย ๆ กันอย่างซ้ำ ๆ เป็นช่วงระยะเวลานานมากจะเป็นสาเหตุของอาการกล้ามเนื้อยึด หรือการใช้กลุ่มกล้ามเนื้อที่มากเกินไปจนทำให้เกิดกล้ามเนื้อเหนื่อยล้า เช่น การอุดฟันจำนวนหลายซี่
2. **Force** ลักษณะงานที่มีการออกแรง หมายถึง มีการใช้ความพยายามทางกายภาพในการเคลื่อนไหวเป็นการเฉพาะ ในงานที่มีการออกแรงมากจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดปวดเมื่อยกล้ามเนื้อได้ เช่น การถอนฟันที่ยาก
3. **Vibration** ลักษณะงานที่มีความสั่นสะเทือน เช่น จากใช้ค้ำมกรอฟัน หรือการใช้เครื่องขุดหินปูน พบว่า มีความถี่

ของความถี่สั่นสะเทือน 5,000 - 10,000 Hz ขณะอุดฟัน และ 6,000 - 40,000 Hz ขณะขุดหินปูน อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า การใช้ค้ำมกรอฟันของทันตแพทย์มีความถี่ของการสั่นสะเทือนที่ต่ำมากคล้ายกับการขับรถยนต์¹⁸ และจากการตอบแบบสอบถามพบว่า ทันตบุคลากรมักประเมินความสั่นสะเทือนที่ได้รับจากการทำงานสูงกว่าความเป็นจริง²²

4. **Extrinsic stress** ลักษณะงานที่มีความเครียดจากปัจจัยภายนอก อาจเป็นความเครียดที่มาจากงานในองค์กรหรือหน่วยงานที่สังกัด เช่น ความคาดหวังความก้าวหน้าในวิชาชีพ และภาระงานที่เพิ่มขึ้น²³

5. **Posture** ลักษณะท่าทางที่ใช้ในการทำงาน การเคลื่อนที่ของข้อต่อต่าง ๆ ในร่างกาย ทำให้เกิดแรงตอกกล้ามเนื้อส่วนใดส่วนหนึ่งมากเกินไป พบว่า การเจ็บกล้ามเนื้อ

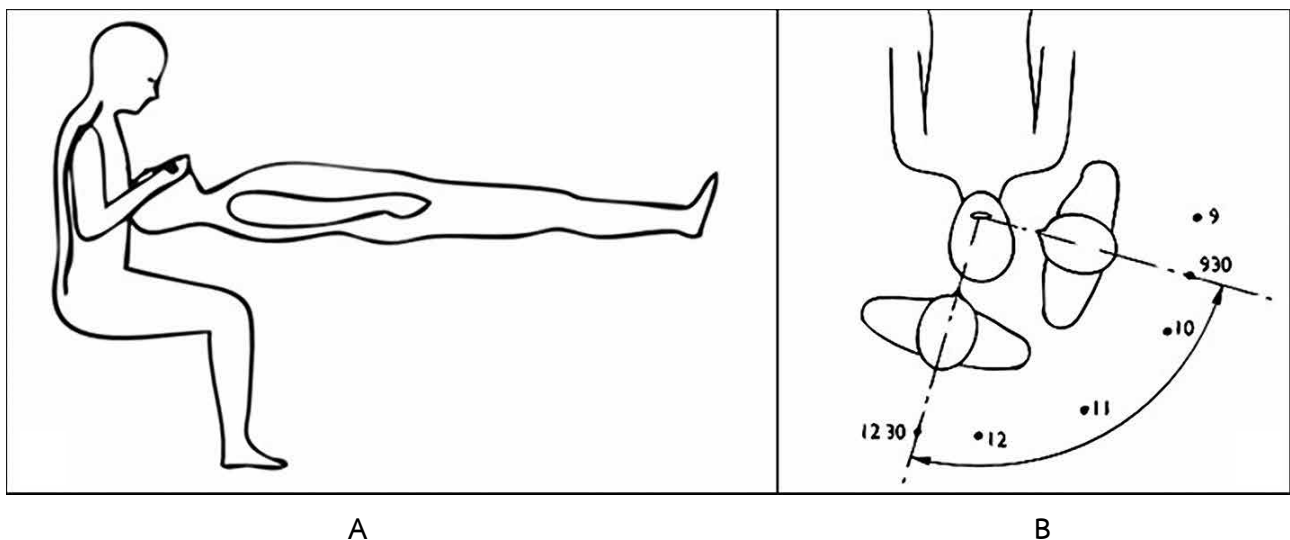
และกระดูกโครงร่างจะเกิดมากขึ้น เมื่อท่าทางการทำงานเปลี่ยนไปจากท่าทางที่เป็นปกติตามธรรมชาติของมนุษย์ (neutral posture) และมีช่วงระยะเวลาที่นานเกินไป เช่น ท่านั่งของทันตแพทย์การบิดลำตัว การก้ม การหมุนคอ การยกศอก ที่ไม่เหมาะสมเป็นเวลานาน ซึ่งลักษณะท่าทางที่ใช้ในการทำงานเป็นสาเหตุหลักของอาการเจ็บกล้ามเนื้อ และกระดูกโครงร่างของทันตแพทย์²¹

ข้อเสนอแนะเพื่อป้องกันอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อจากการปฏิบัติงานในคลินิกทันตกรรมของทันตแพทย์

1. ท่าทางและตำแหน่งขณะปฏิบัติงานทันตกรรมของทันตแพทย์

1.1 ทันตแพทย์ควรนั่งลำตัวตรง เพื่อให้กระดูกสันหลังวางตัวตามธรรมชาติ (the natural spinal curves) ในตำแหน่งที่มีระยะห่างเหมาะสม และสามารถเข้าถึงช่องปากของคนไข้ได้โดยสะดวก คนไข้ควรอยู่ในท่านอนหงายราบ (supine position)^{21,24} ดังรูป 2A

1.2 เมื่อกำหนดให้ตำแหน่งศีรษะของผู้ป่วยเปรียบเสมือนหน้าปัดนาฬิกา ตำแหน่งในการนั่งปฏิบัติงานของทันตแพทย์ควรอยู่ระหว่าง 9.30 ถึง 12.30 นาฬิกา เพื่อลดการบิดบริเวณลำตัวส่วนบนและลำคอ²⁴ ดังรูป 2B



รูปที่ 2 ท่าทางและตำแหน่งขณะปฏิบัติงานทันตกรรมของทันตแพทย์

Figure 2 Dental operator's posture and position

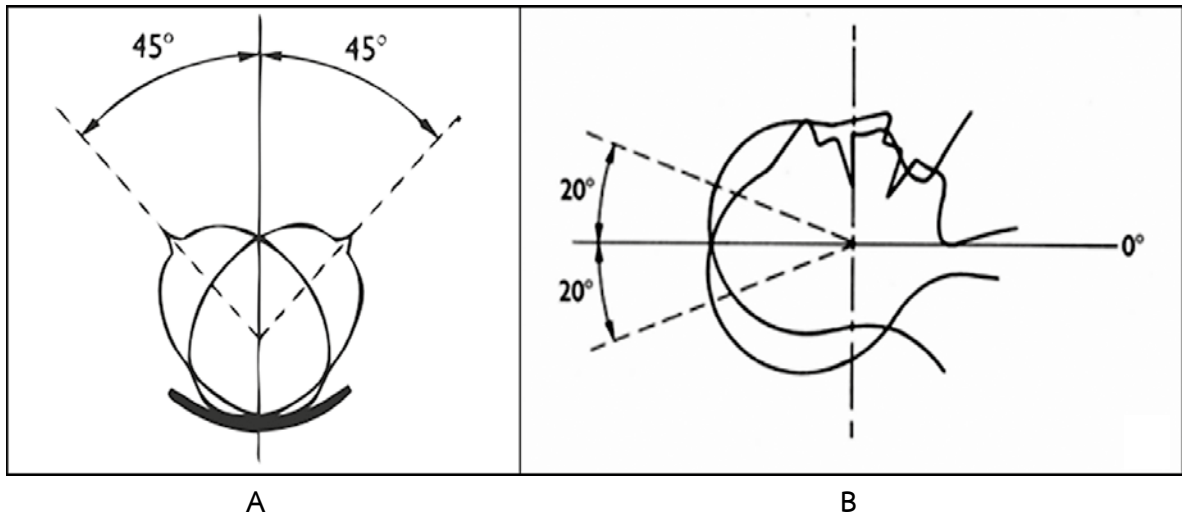
2. การปรับตำแหน่งศีรษะผู้ป่วยขณะรับการรักษาทันตกรรม

2.1 จัดศีรษะผู้ป่วยปรับเอียงตำแหน่งศีรษะไปทางซ้ายหรือทางขวาของทันตแพทย์ ในช่วงระยะมุมไม่เกินกว่า 45 องศา ตามภาพที่ 3A จะช่วยให้ทันตแพทย์ทำงานได้สะดวกมากขึ้น²⁴

2.2 จัดศีรษะผู้ป่วยปรับตำแหน่งศีรษะก้มไปทางด้านหน้าไม่เกิน 20 องศา ขณะทำการรักษาฟันล่าง หรือ

เงยศีรษะไปด้านหลังไม่เกิน 20 องศา ขณะทำการรักษาฟันบน ตามภาพที่ 3B จะช่วยให้ทันตแพทย์มองเห็นตำแหน่งซี่ฟันได้ชัดเจนมากขึ้น²⁴

2.3 ระดับความสูงของศีรษะผู้ป่วยที่เหมาะสมขณะรับการรักษาทางทันตกรรม ด้านบดเคี้ยวของฟันผู้ป่วย ควรอยู่ในตำแหน่งที่ข้อศอกของทันตแพทย์ขนานกับพื้น จะช่วยลดความผิดปกติของกล้ามเนื้อบริเวณไหล่ของทันตแพทย์ได้²⁵



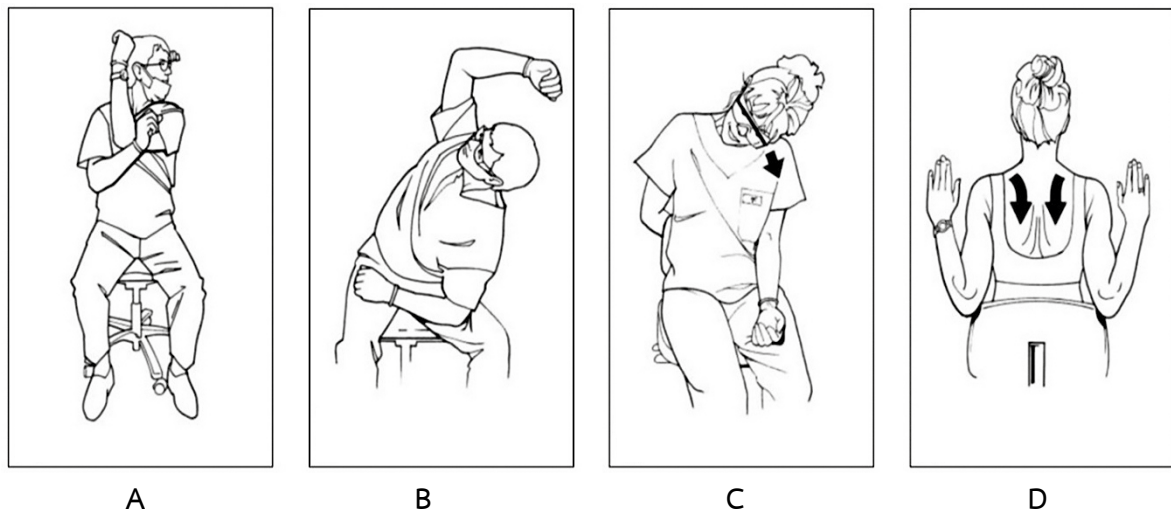
รูปที่ 3 การปรับตำแหน่งศีรษะผู้ป่วย

Figure 3 Patient's headrest positioning

3. การจัดช่วงเวลาพักสำหรับการผ่อนคลายกล้ามเนื้อในคลินิกทันตกรรม (Chairside directional stretches)

ทันตแพทย์ควรหยุดพักขณะปฏิบัติงานเป็นช่วงเวลาสั้น ๆ เช่น ระหว่างเปลี่ยนตำแหน่งซีฟันหรือระหว่าง

เปลี่ยนผู้ป่วย โดยสามารถใช้ช่วงเวลานั้นในการยืดหยุ่นร่างกายและผ่อนคลายกล้ามเนื้อ รูปที่ 4 แสดงวิธีคลายกล้ามเนื้อในคลินิกทันตกรรมตามคำแนะนำของ Valachi และ Valachi²⁵



รูปที่ 4 ตัวอย่างท่ากายบริหารสำหรับผ่อนคลายกล้ามเนื้อในคลินิกทันตกรรม

Figure 4 Examples of chairside directional stretches

4. การออกกำลังกายเสริมความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเพื่อป้องกันอาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อจากการปฏิบัติงานในคลินิกทันตกรรมของทันตแพทย์²⁶

ออกกำลังกายแบบแอโรบิก (aerobic exercise)

เช่น เดิน วิ่ง ว่ายน้ำ ว่ายน้ำ กระโดดเชือก อย่างสม่ำเสมอ ครั้งละอย่างน้อย 20 นาที 3 - 4 ครั้งต่อสัปดาห์ จะช่วยให้ระบบไหลเวียนโลหิตดีขึ้น ส่งผลให้กล้ามเนื้อส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอ

ออกกำลังกายแบบแอนแอโรบิค (anaerobic exercise) เช่น โยคะ ยกน้ำหนัก เพื่อเสริมความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเฉพาะส่วน โดยลำตัว ช่วงท้อง ลำคอ และไหล่²⁷

บทสรุป

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า อาการผิดปกติทางระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อจากการปฏิบัติงานในคลินิกทันตกรรมของทันตแพทย์เกิดได้จากหลายเหตุปัจจัย โดยมีรายงานว่า ท่าทางการทำงานที่ไม่เหมาะสมของทันตแพทย์ เป็นสาเหตุหลักของอาการผิดปกติบริเวณหลังส่วนล่าง ลำคอ และ ไหล่ ปัจจุบันทันตแพทย์จากหลายประเทศทั่วโลกได้นำหลักการยศาสตร์มาใช้ในการป้องกันและลดความเสี่ยงจากอาการดังกล่าว

ในประเทศไทย ยังขาดองค์ความรู้ในเรื่องท่าทางการปฏิบัติงานในคลินิกทันตกรรมตามหลักการยศาสตร์ที่เหมาะสมกับสรีระของทันตแพทย์ไทย จำเป็นต้องได้รับการศึกษาและพัฒนาตามหลักวิชาการในวงกว้างต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Luttermann A, Jager M, Griefahn B. Preventing Musculoskeletal disorder in workplace. World Health Organization. 2003; Protecting Worker's Health Series No 5. [updated 2003; cited 2015 Oct 19]. Available from: http://www.who.int/occupational_health/publications/en/oehmsd3.pdf
2. Punnett L, Wegman DH. Work-related musculoskeletal disorders: the epidemiologic evidence and the debate. *J Electromyogr Kinesiol* 2004;14:13-23.
3. Abate R. Musculoskeletal Disorders. *Ontario Dentist* 2011;88:51.
4. National Institute for Occupational Safety and Health. National occupational research agenda for musculoskeletal disorders; Research

- Topics for the Next Decade A Report by the NORA Musculoskeletal Disorders Team. 2001. [updated January 2001; cited 2015 Oct 19]. Available from: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2001-117/pdfs/2001-117.pdf>
5. Hayes M, Cockrell D, Smith DR. A systematic review of musculoskeletal disorders among dental professionals. *Int J Dent Hyg* 2009;7:159-65.
 6. Garbin AJ, Garbin CA, Moimaz SA, Baldan RC, Zina LG. Dental practice and musculoskeletal disorders association: a look at the evidence. *Arch Environ Occup Health* 2011;66:26-33.
 7. Kumar SP, Kumar V, Baliga M. Work-related musculoskeletal disorders among dental professionals: an evidence-based update. *Ind J Dent Edu* 2012;5:5-12.
 8. Szymanska J. Disorders of the musculoskeletal system among dentists from the aspect of ergonomics and prophylaxis. *Ann Agric Environ Med* 2002;9:169-73.
 9. Alexopoulos EC, Stathi IC, Charizani F. Prevalence of musculoskeletal disorders in dentists. *BMC Musculoskelet Disord* 2004;5:16.
 10. Palliser CR, Firth HM, Feyer AM, Paulin SM. Musculoskeletal discomfort and work-related stress in New Zealand dentists. *Work & Stress* 2005;19:351-9.
 11. Leggat PA, Smith DR. Musculoskeletal disorders self-reported by dentists in Queensland, Australia. *Aust Dent J* 2006;51:324-7.
 12. Pargali N, Jowkar N. Prevalence of musculoskeletal pain among dentists in Shiraz, Southern Iran. *Int J Occup Environ Med* 2010;1:69-74.
 13. Thanathornwong B. A study of occupational

- risk factors which related to musculoskeletal disorders for dentists. *Thai J Dent Pub Health*. 2011;16:9-24.
14. Kumar VK, Kumar SP, Baliga MR. Prevalence of work-related musculoskeletal complaints among dentists in India: a national cross-sectional survey. *Indian J Dent Res* 2013;24:428-38.
 15. Feng B, Liang Q, Wang Y, Andersen LL, Szeto G. Prevalence of work-related musculoskeletal symptoms of the neck and upper extremity among dentists in China. *BMJ Open* 2014;12:e006451. doi: 10.1136/bmjopen-2014-006451.
 16. Rehman K, Ayaz H, Urooj W, Shah R. Work-related musculoskeletal disorders among dental practitioners in Khyber Pakhtunkhwa. *Pakis Oral & Dent J* 2013;33:531-4.
 17. Alghadir A, Zafar H, Iqbal ZA. Work-related musculoskeletal disorders among dental professionals in Saudi Arabia. *J Phys Ther Sci* 2015;27:1107-12.
 18. American Dental Association. An introduction to Ergonomics: risk factors, MSDs approaches and interventions. A Report of the Ergonomics and Disability Support Advisory Committee (EDSAC) to Council on Dental Practice (CDP) 2004. [updated 2004; cited 2015 Oct 19]. Available from: [http://rgpdental.com/pdfs/topics_ergonomics_paper\(2\).pdf](http://rgpdental.com/pdfs/topics_ergonomics_paper(2).pdf)
 19. Gupta S. Ergonomic applications to dental practice. *Indian J Dent Res* 2011;22:816-22.
 20. Gupta A, Ankola AV, Hebbal M. Optimizing human factors in dentistry. *Dent Res J (Isfahan)* 2013;10:254-9.
 21. Valachi B, Valachi K. Mechanisms leading to musculoskeletal disorders in dentistry. *J Am Dent Assoc* 2003;134:1344-50.
 22. Akesson I, Balogh I, Skerfving S. Self-reported and measured time of vibration exposure at ultrasonic scaling in dental hygienists. *Appl Ergon* 2001;32:47-51.
 23. Rusli BN, Edimansyah BA, Naing L. Prevalence and associated factors of stress in dental healthcare workers of a higher Institution of learning in Kelantan. *Arch Orofac Sci* 2006;1:51-6.
 24. British Dental Association. Occupational back pain. Fact file. 2010. [update 2010; cite 2016 Jan 19]. Available from: https://www.bda.org/dentists/policy-campaigns/public-health-science/fact-files/Documents/occupational_back_pain_factfile.pdf
 25. Valachi B, Valachi K. Preventing musculoskeletal disorders in clinical dentistry: strategies to address the mechanisms leading to musculoskeletal disorders. *J Am Dent Assoc* 2003;134:1604-12.
 26. Kumar DK, Rathana N, Mohan S, Begum M, Prasad B, Prasad ER. Exercise prescriptions to prevent musculoskeletal disorders in dentists. *J Clin Diagn Res* 2014;8:ZE13-6.
 27. Koneru S, Tanikonda R. Role of yoga and physical activity in work-related musculoskeletal disorders among dentists. *J Int Soc Prev Community Dent* 2015;5:199-204.

Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Surface Microhardness of Human Enamel

Kornkamon Sukjit¹, Thunyarat Denkongphol², Pavana Jangvangsit³ and Rathagorn Putthacharoen⁴

¹Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

²Private Dental Clinic, Bangkok, Thailand

³Private Dental Clinic, Sakonnakhon, Thailand

⁴Private Dental Clinic, Pathum Thani, Thailand

Correspondence to:

Kornkamon Sukjit. Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Muaeng, Khon Kaen 40002 Thailand

Tel: 043-202405 Fax: 043-202862 E-mail: nidchan46@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on surface microhardness of demineralized enamel surface of human tooth. Twenty-six extracted human maxillary premolars were kept in 0.1 % thymol solution for 2 weeks after extraction. The tooth was cut vertically into 2 halves; buccal and lingual using diamond tooth cutting device. Fifty two specimens were randomly divided into 2 groups; control and experimental groups (N = 26 each). For demineralization, all specimens were stored in 0.1 M lactic acid pH 4.8 for 4 days. All specimens were subjected to Vicker's microhardness measurement (VHN_{C1} for control group and VHN_{E1} for experimental group). The specimens in control and experimental groups were stored in 0.1 M lactic acid pH 4.75 for 10 minutes twice a day and then in artificial saliva at 37°C for 14 days, except that in experimental group, the specimens were applied with CPP-ACP tooth mousse for 3 minutes before storage in artificial saliva. After 14 days storage, the VHN_{C2}, VHN_{E2} were measured and ΔVHN_C and ΔVHN_E which were the difference between VHN_{C1}, VHN_{C2} and VHN_{E1}, VHN_{E2} were calculated. In control group, All the VHN are VHN_{C1} = 242.07 kgf/mm², VHN_{C2} = 201.69 kgf/mm² and ΔVHN_C = -40.37 kgf/mm². In experimental group, all the VHN are VHN_{E1} = 245.31 kgf/mm², VHN_{E2} = 259.62 kgf/mm² and ΔVHN_E = 14.31 kgf/mm². ΔVHN_C and ΔVHN_E were tested by paired *t*-test (*p* = 0.05). Mean average of surface microhardness of control group significantly differenced to study group (*p* < 0.001). The specimens treated with CPP-ACP showed significantly more microhardness value than those not treated (*p* < 0.001). It is concluded that CPP-ACP tooth mousse increased human enamel surface microhardness.

Key words: Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP); Demineralization; Remineralization

Received Date: Dec 16, 2015 Accepted Date: Mar 22, 2016

doi: 10.14456/jdat.2016.8

ผลของสารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตต่อความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์

กรกมล สุขจิตต์¹, ธัญญรัตน์ เค้นกองพล², ภาวนา จางวางสิทธิ³ และรัฐกร พุทธเจริญ⁴

¹ ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

² คลินิกทันตกรรมเอกชน กรุงเทพฯ ประเทศไทย

³ คลินิกทันตกรรมเอกชน สกลนคร ประเทศไทย

⁴ คลินิกทันตกรรมเอกชน ปทุมธานี ประเทศไทย

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

กรกมล สุขจิตต์ ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

โทรศัพท์: 043-202405 โทรสาร: 043-202862 อีเมล: nidchan46@yahoo.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์ กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (CCP-ACP) ต่อความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์ ฟันกรามน้อยแท้ของมนุษย์ที่ถูกถอนออกมาจำนวน 26 ซี่ถูกนำมาแช่ไว้ในน้ำยาไฮดรอกซีอะลิวมิเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะถูกตัดแบ่งในแนวตั้งออกเป็น 2 ส่วนคือ ด้านแก้ม และด้านหลังด้วยเครื่องตัดฟันหัตถการเพชร ชิ้นตัวอย่าง 52 ชิ้นจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาโดยวิธีสุ่มได้กลุ่มละ 26 ชิ้นงาน เพื่อให้เกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุก่อนการทดลองจะนำชิ้นตัวอย่างทั้งหมดแช่ในสารละลายแลคติกความเข้มข้น 0.1 โมลที่สภาวะความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.8 เป็นเวลา 4 วัน ทำการวัดความแข็งแรงระดับจุลภาคด้วยเครื่องวัดครั้งที่ 1 จะทำให้ได้ค่าความแข็งแรงระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม (VHN_{C1}) และกลุ่มศึกษา (VHN_{E1}) ก่อนการทดลองในแต่ละวันจะนำชิ้นตัวอย่างทั้งหมดแช่ในสารละลายแลคติกความเข้มข้น 0.1 โมลที่สภาวะความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.75 ครั้งละ 10 นาทีวันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็น) และเก็บไว้ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วันโดยกลุ่มศึกษาจะได้รับการทาสาร CPP-ACP เป็นเวลา 3 นาทีวันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็น) หลังจากแช่สารละลายแลคติก 10 นาที ก่อนจะนำกลับไปแช่ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วนในกลุ่มควบคุมจะไม่ได้มีการทาสาร CPP-ACP ก่อนจะนำกลับไปแช่ในน้ำลายเทียม เมื่อครบกำหนด 14 วัน นำชิ้นงานทั้ง 2 กลุ่มมาวัดความแข็งแรงระดับจุลภาคครั้งที่ 2 ทำให้ได้ค่าความแข็งแรงระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม (VHN_{C2}) และกลุ่มศึกษา (VHN_{E2}) จากนั้นคำนวณความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความแข็งแรงระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม (ΔVHN_C) และกลุ่มศึกษา (ΔVHN_E) และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ paired t -test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ผลการวิจัยพบว่า ในกลุ่มควบคุมมี VHN_{C1} เท่ากับ 242.07 kgf/mm^2 และกลุ่มศึกษามี VHN_{E1} เท่ากับ 245.31 kgf/mm^2 ส่วนค่า VHN_{C2} ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 201.69 kgf/mm^2 ซึ่งมีค่า ΔVHN_C ลดลงเท่ากับ -40.37 kgf/mm^2 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง ในกลุ่มศึกษามี VHN_{E2} เท่ากับ 259.62 kgf/mm^2 ซึ่งมีค่า ΔVHN_E เพิ่มขึ้นเท่ากับ 14.31 kgf/mm^2 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ paired t -test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของความแข็งแรงระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษามีค่าต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) สรุปผลการวิจัย ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของความแข็งแรงระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษามีค่าต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.001$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตทำให้ค่าความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ: สารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต; การสูญเสียแร่ธาตุ; การคืนกลับของแร่ธาตุ

ปัจจุบันโรคฟันผุยังคงเป็นปัญหาด้านทันตสาธารณสุขของประเทศไทยในทุกกลุ่มอายุ ในอดีตการรักษาทำได้โดยการกรอตัดฟันส่วนที่ผุออกเพื่อกำจัดเนื้อฟันที่มีการสูญเสียแร่ธาตุออกก่อนทำการบูรณะ ปัจจุบันมีการพัฒนางνώความรู้ในการรักษาโรคฟันผุ รวมทั้งวิธีการป้องกันการเกิดโรคฟันผุ สำหรับฟันที่ผุระยะเริ่มต้นและยังไม่มีโพรงฟันเกิดขึ้น มีการรักษาโดยการส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุโดยไม่ต้องกรอตัดเนื้อฟัน^{1,2}

สารที่นิยมนำมาใช้ป้องกันและควบคุมโรคฟันผุได้แก่ ฟลูออไรด์ แต่ฟลูออไรด์มีข้อจำกัดในการใช้ป้องกันฟันผุบริเวณหลุมและร่องฟัน และการได้รับฟลูออไรด์ ในปริมาณที่มากเกินไปจะส่งผลให้เกิดฟลูออโรซิส (fluorosis) การใช้สารที่ไม่ใช่ฟลูออไรด์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกัน และควบคุมโรคฟันผุ ได้แก่ สารคาสีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate; CPP-ACP) โดยคาสีอินฟอสฟอเปปไทด์ กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตจัดเป็นสารที่ไม่ใช่ฟลูออไรด์ที่ประกอบด้วยแคลเซียม และฟอสเฟต³

CPP-ACP ได้พัฒนาขึ้นมาจากสารฟอสฟอเปปไทด์ (phosphopeptide) จากคาสีอิน (casein) ในน้ำนม คาสีอินฟอสฟอเปปไทด์ (casein phosphopeptides; CPP) ประกอบด้วย ลำดับของมัลติฟอสฟอซีริล (multiphosphoryl) ซึ่งมีความสามารถที่จะคงสภาพแคลเซียมฟอสเฟตในสารละลายอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (amorphous calcium phosphate; ACP) ภายในสารละลายขนาดนาโนคอมเพล็กซ์ (nanocomplex)⁴ โมเลกุลเชิงซ้อนขนาดนาโนของ CPP-APP จะจับกับบริเวณผิวฟัน ช่วยป้องกันกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุและสามารถทำให้เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุที่โครงสร้างรอยโรคของเคลือบฟันระดับใต้พื้นผิว (enamel subsurface lesion) โดยการสร้างอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟลูออไรด์ฟอสเฟต (amorphous calcium fluoride phosphate) และทำให้คงสภาพด้วยคาสีอินฟอสฟอ

เปปไทด์ ที่บริเวณผิวฟันซึ่งสารเหล่านี้สามารถแพร่เข้าไปในบริเวณที่เป็นรอยโรคได้โดยสารละลายแคลเซียมฟอสเฟต และฟลูออไรด์สามารถช่วยเร่งกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุด้วยฟลูออโรอะพาไทต์ (fluoroapatite) ซึ่งด้านสภาวะความเป็นกรด และมีความสามารถที่จะแทรกซึมเข้าไปในบริเวณที่เป็นรอยโรคของเคลือบฟันในระดับลึกได้ ข้อดีจากการที่สารสามารถแทรกซึมเข้าไปในรอยโรคได้นั้นจะสามารถทำให้เคลือบฟันที่มีความทึบแสงหรือรอยโรคสีขาว (white spot lesion) กลับมาเป็นปกติได้⁵

จากการศึกษาพบว่า CPP-ACP มีผลยับยั้งกระบวนการการสูญเสียแร่ธาตุและช่วยส่งเสริมกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุสู่ตัวฟัน ในปี ค.ศ. 2003 Cai และคณะ⁵ ได้ศึกษาถึงผลของเม็ดอมที่ปราศจากน้ำตาล โดยใช้น้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ทดแทน และมี CPP-ACP เป็นส่วนประกอบ ในกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุสู่รอยโรคของเคลือบฟันระดับใต้พื้นผิว พบว่า เม็ดอมที่มี CPP-ACP เป็นส่วนประกอบ 18.8 มิลลิกรัม และ 56.4 มิลลิกรัม จะช่วยส่งเสริมกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุในรอยโรคได้ร้อยละ 78 และ 176 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า CPP-ACP สามารถช่วยส่งเสริมให้เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุ โดยขึ้นกับปริมาณ (dose response) ของ CPP-ACP

CPP-ACP มีชื่อทางการค้าคือ Recaldent™ และ Phoscal® Recaldent™ ที่อยู่ในรูปแบบครีมป้ายฟัน ได้แก่ จีซีทูธมูส (GC Tooth Mousse®, GC Corp. Tokyo, Japan) ซึ่งเป็นครีมที่มีน้ำเป็นพื้นฐาน (water base) และปราศจากน้ำตาล โดยบริษัทผู้ผลิตแนะนำให้ใช้ “ทูธมูส” ในการป้องกันฟันผุ รวมถึงการใช้ในการป้องกันฟันผุในผู้ป่วยจัดฟัน ใช้ป้องกันการเกิดการสีกร่อน ใช้รักษาอาการเสียวฟัน ใช้ภายหลังการฟอกสีฟัน ภายหลังการขูดหินปูนและเกลารากฟัน และใช้ร่วมกับฟลูออไรด์ในการป้องกันฟันผุ⁶

นอกจากนี้ ในปี ค.ศ. 1999 Recaldent™ ยังได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration; FDA) ว่ามีความปลอดภัยและ Recaldent™ สามารถใช้ได้กับผู้ที่มีภาวะไม่สามารถ

ทนต่อน้ำตาลแลคโตสได้ เนื่องจาก Recaldent™ ไม่มี ส่วนประกอบของน้ำตาลแลคโตส อย่างไรก็ตามไม่แนะนำให้ใช้ Recaldent™ ในผู้ที่แพ้โปรตีนในน้ำนมวัว (milk protein allergies)⁷

ในปี ค.ศ. 2005 Lennon และคณะ⁸ ได้ศึกษา สารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์ที่ผสมอยู่ในครีมป้ายฟันและ ฟลูออไรด์ต่อการกร่อนของเคลือบฟัน โดยสรุปว่า การใช้ ฟลูออไรด์เจลเฉพาะที่สามารถป้องกันการกร่อนของ ผิวเคลือบฟันได้มากกว่า ในขณะที่คาซีอินฟอสฟอเปปไทด์ หรือฟลูออไรด์ 250 ส่วนในหนึ่งล้านส่วน (ppm) หรือ สารทั้งสองผสมกัน สามารถที่จะป้องกันการกร่อนได้เพียง เล็กน้อย

การวัดแข็งผิวระดับจุลภาคเป็นวิธีการวัด ถึงกระบวนการสูญเสียและกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุ โดยทางอ้อม (indirect) ถ้าระยะที่เกิดจากห้วกดมากขึ้น ก็แสดงว่าเกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ แต่ถ้าหากระยะ ที่เกิดจากห้วกดน้อยลงก็แสดงว่าเกิดกระบวนการคืนกลับ แร่ธาตุ ความสัมพันธ์ระหว่างระยะความแข็งผิวระดับ จุลภาคกับส่วนประกอบที่เป็นแร่ธาตุ โดยเฉพาะ องค์ประกอบด้านปริมาณจะได้นำมาเปรียบเทียบกับ การทดลองเชิงปริมาณ^{9,10}

ในปี พ.ศ. 2548 CPP-ACP มีจำหน่ายในประเทศไทย อยู่ในรูปแบบครีม ชื่อทูธมูส ซึ่งยังไม่มีรายงานผลของ CPP-ACP ต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน มนุษย์ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับผลของ CPP-ACP ชนิดครีม ชื่อทูธมูสต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคแบบ วิเคอร์ของเคลือบฟันมนุษย์นอกเหนือจากฟลูออไรด์เพื่อ เป็นแนวทางในการจัดการโรคฟันผุระยะแรกได้อย่างมี ประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของ CPP-ACP ชนิดครีม ชื่อทูธมูส ต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์ ภายหลังกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษานี้เป็นการวิจัยในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่าง ที่ศึกษา คือฟันกรามน้อยของมนุษย์ที่ถูกถอน จำนวน 26

ซี่ ภายหลังจากถอนฟันถูกเก็บรักษาในสารไทมอลร้อยละ 0.1 (0.1 % thymol) เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เกณฑ์ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

1. เป็นฟันกรามน้อยของมนุษย์ที่ถูกถอนช่วงอายุ 18 - 30 ปี
2. มีเคลือบฟันด้านแก้ม (buccal) และลิ้น (lingual) ปกติ
3. ฟันไม่มีพยาธิสภาพ ฟันตกกระ (fluorosis) หรือมี ภาวะเคลือบฟันเจริญพร่อง (enamel hypoplasia)
4. ไม่มีวัสดุอุดบริเวณเคลือบฟันด้านแก้มและด้านลิ้นที่ ใช้ทดสอบ
5. บริเวณเคลือบฟันด้านแก้มและด้านลิ้นที่ใช้ทดสอบ ไม่มีรอยฟันผุ หรือมีรอยสีขาว หรือสีน้ำตาล (white spot/brown spot) เมื่อดูด้วยตาเปล่า
6. ไม่เป็นฟันที่เคยรักษาคอนโรกฟัน (root canal treatment) มาก่อน

นำฟันกรามน้อยที่ถูกคัดเลือกแล้วมาทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่าและตัดแบ่งฟันโดยใช้เครื่องตัดฟันห้ว กากเพชร (diamond-coated band saw) ภายใต้น้ำเย็น โดยตัดในแนวแกนฟัน (long axis) ออกเป็นสองส่วน คือ ขึ้นด้านแก้ม ด้านลิ้น และตัดแบ่งในแนวด้านใกล้กลาง และไกลกลางของฟัน หลังจากนั้นจึงทำการตัดส่วนตัวฟัน ออกจากรากฟันที่บริเวณคอฟัน

นำชิ้นตัวอย่างด้านแก้มและด้านลิ้นที่ตัดแล้วมา ยึดด้วยเรซินใส ชนิดแข็งตัวได้เองในท่อพีวีซี โดยให้ส่วน ของเคลือบฟันโผล่พ้นเรซินขึ้นมาด้านบนขนานกับฐาน ของท่อพีวีซีเพื่อที่จะให้บริเวณที่จะวัดค่าความแข็งผิวเป็น บริเวณพื้นเรียบที่สุด ทำการแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม ซึ่งใช้ชิ้นตัวอย่าง ด้านแก้มและด้านลิ้นในฟันซี่เดียวกันมาแบ่งเป็นกลุ่ม ศึกษาและกลุ่มควบคุมโดยวิธีสุ่มโยนเหรียญในขั้นตอน กระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ จะนำชิ้นตัวอย่างทั้งในกลุ่ม ศึกษาและกลุ่มควบคุมแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมล ปริมาณ 800 มล. ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรด-ต่าง 4.8 เป็นเวลา 4 วัน

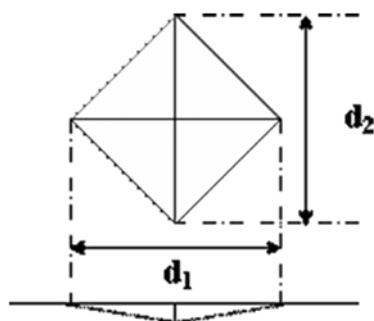
ตารางที่ 1 องค์ประกอบของวัสดุที่ใช้ในการศึกษา

Table 1 Composition of materials used in this study

Materials	Ingredients
Tooth Mousse® (pH = 6.6)	Glycerol, CPPACP, D-sorbitol, CMC-Na, Propylene glycol, Silicone dioxide, Xylitol, Titanium dioxide, Phosphoric acid, Flavoring, Zinc oxide, Sodium saccharin, Ethyl p-hydroxybenzoate, Magnesium oxide, Guar gum, Propyl p-hydroxybenzoate, Butyl p-hydroxybenzoate, Pure water
Artificial saliva (pH = 7)	Potassium Chloride BP 0.65 g/liter Magnesium Chloride BP 0.058 g/liter Calcium Chloride BP 0.165 g/liter Di-potassium hydrogen phosphate USP 0.804 g/liter Potassium dihydrogen phosphate 0.465 g/liter Sodium benzoate 2.0 g/liter Sodium carboxymethyl cellulose BP 7.8 g/liter Deionized water
Lactic acid (pH = 4.8)	0.1 M lactic acid

จากนั้นทำการวัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาทั้งหมด เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานโดยใช้เครื่องทดสอบความแข็งผิวระดับจุลภาคแบบวิกเกอร์ (Vicker microhardness tester: Matsuzawa Model MXT 70) ใช้แรงกด 500 กรัม เป็นเวลา 10 วินาที ทำการทดสอบ 3 รอยกดระยะห่างจาก 2 จุดที่จะทำการวัดต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 100 ไมโครเมตร

โดยผู้ทำการวัดเป็นคนเดียวกันจำนวน 3 ครั้ง นำความกว้างที่วัดได้ คำนวณเป็นค่าความแข็งผิวแบบวิกเกอร์ (Vicker hardness number; VHN) แล้วบันทึกผลที่ได้ และนำมาหาค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันเป็นค่า VHN พื้นฐานของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษากำหนดเป็นค่า VHN_{C1} และ VHN_{E1} ตามลำดับ ค่า VHN คำนวณได้จากสูตร¹¹ และรูปที่ 1



$$VHN = \frac{1.854P}{d^2}$$

โดยที่ HV คือ ค่าความแข็งแบบวิกเกอร์ (kgf/mm²)

P คือ แรงกด (kgf)

d คือ ขนาดเส้นทแยงมุม d1 และ d2 เฉลี่ย (mm.)

รูปที่ 1 ลักษณะความยาวทแยงมุมของรอยกดหัวเพชรของ Vickers Hardness Test

Figure 1 The diagonal length of the indentation from Vickers Hardness Test

ขั้นตอนการทดลองในกลุ่มควบคุม

1. นำขึ้นตัวอย่างทั้งหมดแช่ในน้ำลายเทียม 500 มล. ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 โดยเปลี่ยนน้ำลายเทียมทุกวัน

2. ภายหลังวัดค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน ครั้งที่ 1 (VHN_c) แล้วให้นำขึ้นส่วนเคลือบฟันแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมล ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.75 วันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็นช่วงเวลาห่างกัน 12 ชั่วโมง) ครั้งละ 10 นาที เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในระหว่างวันขึ้นงานจะแช่ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 2 สัปดาห์จะทำการวัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน ครั้งที่ 2 (VHN_c) แล้วบันทึกผลที่ได้

ขั้นตอนการทดลองในกลุ่มศึกษา

1. นำขึ้นตัวอย่างทั้งหมดแช่ในน้ำลายเทียมปริมาณ 500 มล. ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 โดยเปลี่ยนน้ำลายเทียมทุกวัน

2. ภายหลังวัดค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน ครั้งที่ 1 (VHN_{c1}) นำขึ้นส่วนเคลือบฟันแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมล ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.75 นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นและเช็ดให้แห้งด้วยผ้าก๊อช

3. แล้วนำขึ้นตัวอย่างมาทำ CPP-ACP ชนิดทุรสมปริมาณเท่ากับเมล็ดถั่วเขียว ลงบนขึ้นตัวอย่างที่เตรียมไว้ด้วยพู่กัน เป็นชั้นบาง ๆ ให้ทั่วผิวเคลือบฟัน นาน 3 นาที หลังจากนั้นทำการเช็ดออกด้วยผ้าก๊อชแล้วนำกลับไปแช่ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4. ทำตามขั้นตอนที่ 1 ถึง 3 วันละ 2 ครั้งทุกวัน (เช้าและเย็นช่วงเวลาห่างกัน 12 ชั่วโมง) เป็นเวลา 2 สัปดาห์

5. ทำการวัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน ครั้งที่ 2 (VHN_{c2}) แล้วบันทึกผลที่ได้

นำค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน

ครั้งที่ 1 และ 2 มาหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษา (ΔVHN_c และ ΔVHN_e)

ทำการสุ่มขึ้นตัวอย่างของกลุ่มศึกษาจำนวน 2 ชิ้น คือ ก่อนและหลังทำสาร CPP-ACP และกลุ่มควบคุม 1 ชิ้นเตรียมโดยปล่อยขึ้นงานให้แห้งเป็นเวลา 24 ชม. แล้วไปทำให้แห้ง (dehydration) ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นเวลา 20 นาที และความเข้มข้นร้อยละ 75 เป็นเวลา 20 นาที ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 20 นาที ความเข้มข้นร้อยละ 100 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง critical-point dryer แล้วนำไปเคลือบผิวด้วยทองด้วยเครื่องเคลือบผิว (sputter coater) เป็นเวลา 3 นาที เพื่อศึกษาลักษณะพื้นผิวเคลือบฟันของขึ้นตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM, HITACHI Co.Ltd. Japan) ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า

การคำนวณทางสถิติ

ค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันบรรยายด้วยสถิติเชิงพรรณนา คำนวณค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความแปรปรวน

ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างก่อนและหลังทำการทำด้วย CPP-ACP ในกลุ่มควบคุม และในกลุ่มศึกษาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Paired *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.001$

ผล

1. ผลของ CPP-ACP ต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน

เพื่อศึกษาผลของ CPP-ACP ชนิดครีม ชื่อทุรสม ต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์ ภายหลังกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันในกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษา

Table 2 Mean and Standard deviation (mean \pm SD) of the microhardness values of human enamel surface in control and experimental groups

Group	Number of specimen (piece)	VHN ₁ (kgf/mm ²)	VHN ₂ (kgf/mm ²)	Δ VHN (kgf/mm ²)
Control group (acid + artificial saliva)	26	242.07 \pm 10.97	201.69 \pm 7.92	-40.38 ^a \pm 7.97
Experimental group (acid + CPP-ACP + artificial saliva)	26	245.31 \pm 11.46	259.62 \pm 10.85	14.31 ^b \pm 6.19

Δ VHN^a and Δ VHN^b are significantly different to each other ($p < 0.001$)

จากการวัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันพบว่า ค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันหลังจากผ่านกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุมีค่าใกล้เคียงกันคือ ในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน (VHN_{C1}) เท่ากับ 242.07 kgf/mm² และกลุ่มศึกษามีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน (VHN_{E1}) เท่ากับ 245.31 kgf/mm² ส่วนค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคหลังการทดลองในกลุ่มควบคุม (VHN_{C2}) เท่ากับ 201.69 kgf/mm² ซึ่งมีค่าลดลงเท่ากับ -40.38 kgf/mm² คิดเป็นร้อยละ 16.67 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง ในกลุ่มศึกษามีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคหลังการทดลอง (VHN_{E2}) เท่ากับ 259.62 kgf/mm² ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 14.31 kgf/mm² คิดเป็นร้อยละ 5.51 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง

ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษาเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Paired *t*-test จะพบว่าค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างก่อนและหลังทาสาร CPP-ACP

ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษามีค่าเท่ากับ 57.93 kgf/mm² ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 9.90 kgf/mm² และที่ค่าประมาณความเชื่อมั่น 95 % (95 % CI) เท่ากับ 50.69 ถึง 58.68 ซึ่งพบว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างก่อนและหลังทาสาร CPP-ACP ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.001$)

2. ผลของ CPP-ACP ต่อลักษณะของฟันผิวเคลือบฟัน

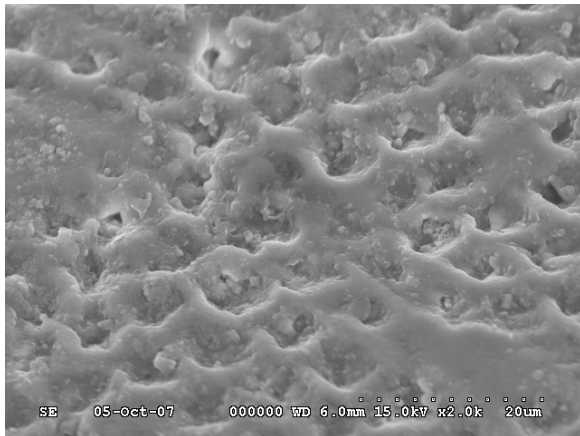
จากการตรวจผิวเคลือบฟันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด เพื่อศึกษาลักษณะพื้นผิวของชิ้นตัวอย่างของกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมพบว่า ภาพผิวเคลือบฟันภายหลังจากกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ (รูป 2 A) เป็นผิวเคลือบฟันที่ผ่านการแช่ในสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมล ที่สภาวะความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.8 เป็นเวลา 4 วัน พบว่า ผิวเคลือบฟันมีการสูญเสียอินทรีย์สาร (prism sheath) ซึ่งเป็นส่วนประกอบเคลือบฟันที่อยู่รอบ ๆ ส่วนที่เป็นอินทรีย์สาร (prism core)

คล้ายกับการกัดกรดผิวเคลือบฟันที่ไม่ได้ผ่านการตัด (non-cutting enamel etching) จึงทำให้เห็นลักษณะผิวเคลือบฟันเป็นรูพรุนกระจายเต็มบริเวณผิวเคลือบฟัน มีการหลุดกะเทาะของผิวเคลือบฟัน

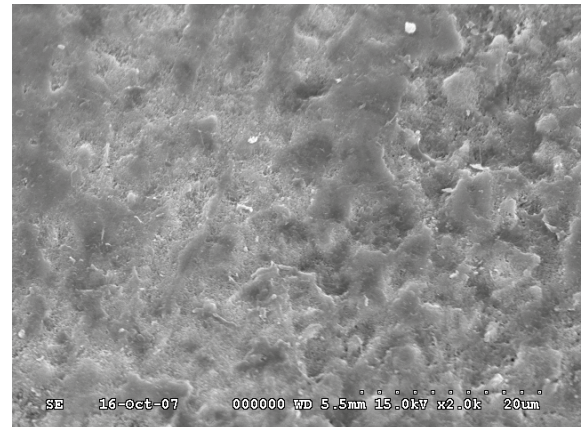
ภาพผิวเคลือบฟันในกลุ่มควบคุม (รูป 2B) เป็นผิวเคลือบฟันที่ไม่ได้ผ่านการทาสาร CPP-ACP พบว่าผิวเคลือบฟันมีลักษณะเป็นรูพรุนมาก แทบมองไม่เห็น

โครงสร้างของเนื้อฟัน ไม่มีลักษณะของสารหรือแร่ธาตุมาเคลือบที่ผิวเคลือบฟัน

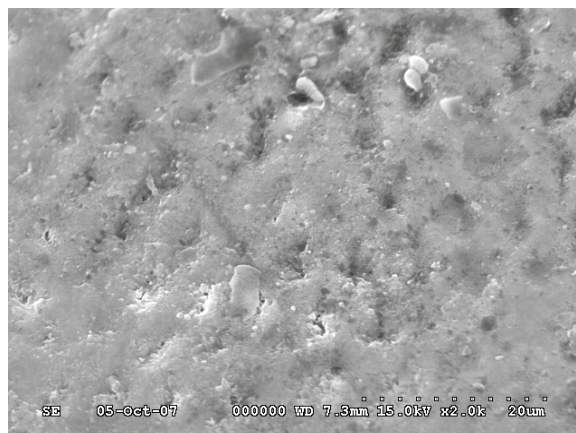
ภาพผิวเคลือบฟันในกลุ่มศึกษา (รูป 2C) เป็นผิวเคลือบฟันที่ผ่านการทาสาร CPP-ACP พบว่าผิวเคลือบฟันบริเวณที่เคยมีการสูญเสียแร่ธาตุจะมีแร่ธาตุหรือสารบางอย่างมาอุดปิด จึงทำให้ลักษณะของผิวเคลือบฟันมีรูพรุนน้อยกว่าก่อนทาสาร CPP-ACP



A



B



C

รูปที่ 2 ลักษณะผิวเคลือบฟัน เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (กำลังขยาย 15 kV, 2000x)

- A. ผิวเคลือบฟันที่ผ่านกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ
- B. ผิวเคลือบฟันที่ผ่านกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุในกลุ่มควบคุม
- C. ผิวเคลือบฟันในกลุ่มศึกษา

Figure 2 Photomicrographs of human enamel surface using SEM at 15 kV, 2000x magnification

- A. Enamel surface after demineralization
- B. Enamel surface after demineralization in control group
- C. Enamel surface in experimental group

บทวิจารณ์

การศึกษานี้ศึกษาผลของ CPP-ACP ต่อผิวเคลือบฟันมนุษย์ปกติ ประเมินผลด้วยการวัดความแข็งผิวระดับจุลภาคแบบวิกเกอร์ ถึงแม้ว่าจะเป็น การวัดการสูญเสียแร่ธาตุหรือการสะสมกลับแบบทางอ้อมแต่ก็มีข้อดีคือ เป็นวิธีที่ทำได้ไม่ยากนักสามารถทำซ้ำได้และไม่ทำลายชิ้นงาน แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อด้อยคือไม่สามารถบ่งบอกปริมาณการสูญเสียแร่ธาตุได้ ชิ้นงานที่ทดสอบจะต้องมีลักษณะผิวเรียบและได้ระนาบเดียวกัน ซึ่งต้องมีการขัดผิวฟันให้เรียบ ผิวฟันที่ถูกขัดจะอยู่ห่างจากผิวภายนอกไม่เท่ากัน แต่ในการศึกษานี้ไม่ได้มีการขัดผิวฟัน เนื่องจากต้องการวัดที่ผิวภายนอกเคลือบฟันจริง โดยขณะที่วัดต้องเลือกพื้นที่ที่ห่างจากกับหัวกดและลักษณะรอยกดมีความสมมาตรที่สุด

จากการศึกษาของ Gutierrez-salazar และคณะ ในปี ค.ศ. 2001¹² พบว่า ค่าเคลือบฟันมนุษย์ปกติมีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคเท่ากับ 268 - 375 kgf/mm² การศึกษานี้ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษา (VHN_C และ VHN_E) พบว่า มีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคเท่ากับ 242.07 kgf/mm² และ 245.31 kgf/mm² ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าภายหลังจากกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ ค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคมีค่าลดลงจากค่าเฉลี่ยของเคลือบฟันปกติ และค่าระหว่าง 2 กลุ่มมีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันทางด้านแก้มและด้านลิ้น

ในการศึกษานี้ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันหลังทาสาร CPP-ACP ในกลุ่มควบคุมมีค่าลดลงเท่ากับ (Δ VHN_C)-40.37 คิดเป็นร้อยละ 16.67 และกลุ่มศึกษามีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ (Δ VHN_E) 14.31 คิดเป็นร้อยละ 5.51 ซึ่งการทดสอบด้วยสถิติ Paired *t*-test พบว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.001$ ทั้งนี้เนื่องจาก CPP มีความสามารถรวมตัวกับแคลเซียมและฟอสเฟตช่วยให้เกิดความคงทน

ไม่ตกตะกอน นอกจากนี้ CPP ยังช่วยให้ ACP คงอยู่บนผิวฟันทำให้เกิดความอึดตัวของแคลเซียมและฟอสเฟต ซึ่งจะช่วยลดการสูญเสียแร่ธาตุและกระตุ้นการส่งเสริมให้เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุได้¹³ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ หทัยชนก สุขเกษม ในปี พ.ศ. 2549¹⁴ ที่พบว่า เคลือบฟันที่ถูกสึกกร่อนโดยเครื่องดื่มโคลา และได้รับการทาด้วย CPP-ACP และกลุ่มที่ได้รับน้ำลายเทียม มีความแข็งผิวระดับจุลภาคเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ากลุ่มที่ได้รับการทาด้วย CPP-ACP มีความแข็งผิวระดับจุลภาคมากกว่ากลุ่มที่สัมผัสกับน้ำลายเทียมเพียงอย่างเดียว

การศึกษาของ Hegde และคณะ ในปี ค.ศ. 2012¹⁵ ศึกษาประสิทธิภาพของการคืนกลับของแร่ธาตุของ CPP-ACP โดยใช้ SEM-EDX (scanning electron microscopy with energy dispersive x-ray analysis) ซึ่งพบว่า CPP-ACP มีประสิทธิภาพในการคืนกลับของแร่ธาตุในเคลือบฟันที่มีการจำลองให้เกิดการผุในระยะเริ่มแรกในห้องปฏิบัติการ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Somani ในปี ค.ศ. 2014¹⁶ ซึ่งศึกษาผลของประสิทธิภาพในการคืนกลับของแร่ธาตุของ CPP-ACP และ CPP-ACPF (ซึ่งก็คือ CPP-ACP ที่มีส่วนประกอบของฟลูออไรด์) แต่เป็นการจำลองการเกิดโดยการแช่ชิ้นงานในเครื่องดื่มที่มีคาร์บอเนต (carbonate drink) เพื่อให้เกิดฟันกร่อน (dental erosion) และวัดโดยการใช้อุปกรณ์วัดความแข็งผิวแบบวิกเกอร์ ผลการทดลองพบว่า CPP-ACP และ CPP-ACPF ให้ผลในการเพิ่มความแข็งผิวมากกว่าน้ำลายเทียมอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ มีการศึกษาในสัตว์ทดลอง ในห้องปฏิบัติการและการศึกษาแบบอิน ซิตู (*in situ*) ที่แสดงถึงประสิทธิภาพในการสะสมกลับของแร่ธาตุของ CPP-ACP^{5,17,18,19}

ภาพผิวเคลือบฟันภายหลังจากทาสาร CPP-ACP (รูป 5 C) เป็นผิวเคลือบฟันที่ผ่านการทาสาร CPP-ACP พบว่าผิวเคลือบฟันบริเวณที่เคยมีการสูญเสียแร่ธาตุจะมีแร่ธาตุหรือสารมาอุดปิด จึงทำให้ลักษณะของผิวเคลือบฟันมีรูพรุนน้อยกว่าก่อนทาสาร CPP-ACP ซึ่งอาจเป็นผล

มาจากแคลเซียมหรือฟอสเฟตที่อยู่ในสาร CPP-ACP จากภาพดังกล่าวจะเห็นว่า เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุ และจากการวัดค่าความแข็งผิวหลังทาสารจะเห็นว่า มีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Oshiro M และคณะ ในปี 2007²⁰ ที่ศึกษาเรื่องผลของสาร CPP-ACP ต่อกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุของฟันวัวโดยศึกษาผิวเคลือบฟันจากกล้องจุลทรรศน์ FE-SEM (Field Emission Scanning Electron Microscope) พบว่าสาร CPP-ACP มีประสิทธิภาพในการป้องกันกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุของเคลือบฟันและเนื้อฟัน Yamaguchi และคณะในปี ค.ศ. 2005²¹ ก็ศึกษาของผลของสาร CPP-ACP ต่อคุณสมบัติทางกลของเคลือบฟันวัวเช่นกันซึ่งทดสอบโดยเครื่องมืออัลตราโซนิกพบว่า สารอนินทรีย์ที่อยู่ใน CPP-ACP ทำให้เกิดการคืนกลับของแร่ธาตุ

อย่างไรก็ตามมีการศึกษาประสิทธิภาพของการคืนกลับของแร่ธาตุโดยใช้ CPP-ACP ในรูปแบบครีมในเคลือบฟันที่มีการจำลองให้เกิดการผุในระยะเริ่มแรก และ CPP-ACPF โดยเปรียบเทียบกับน้ำลายเทียมและยาสีฟันเครสต์ (CrestTM) โดยวัดความแข็งผิวระดับจุลภาค (surface microhardness; SMH) ผลการศึกษาพบว่า มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของชิ้นงานที่ทำการรักษาด้วย CPP-ACP, CPP-ACPF และยาสีฟัน²² ซึ่งได้ผลการศึกษาเหมือนกับการศึกษาของ Turssi CP และคณะ ในปี ค.ศ. 2011²³

จากการศึกษานี้พบว่า ความแข็งผิวระดับจุลภาคเพิ่มขึ้นจากการทา CPP-ACP แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าความแข็งผิวระดับจุลภาคที่เพิ่มขึ้นเกิดจากองค์ประกอบตัวใดจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป นอกจากนี้ควรมีการศึกษาทางคลินิกถึงผลของสาร CPP-ACP ในการรักษาฟันผุในระยะเริ่มแรก

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ อาจมีปัจจัยบางอย่างที่แตกต่างจากสภาพในช่องปากซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ เช่น ความแตกต่างของผิวเคลือบฟันระหว่างบุคคล ความแตกต่างของสภาพน้ำลายในปาก เป็นต้น

บทสรุป

การศึกษานี้เป็นการศึกษาถึงความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันในกลุ่มที่ใช้สาร CPP-ACP (กลุ่มศึกษา) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้สาร CPP-ACP (กลุ่มควบคุม) จากผลการทดลองสรุปได้ว่า ค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันหลังการทดลอง ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ (VHN_{0.2}) $201.69 \pm 7.92 \text{ kgf/mm}^2$ ซึ่งมีค่าลดลงเท่ากับ (ΔVHN) $-40.37 \pm 7.97 \text{ kgf/mm}^2$ เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง ส่วนในกลุ่มศึกษามีค่าเท่ากับ (VHN_{0.2}) $259.62 \pm 10.85 \text{ kgf/mm}^2$ ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ (ΔVHN) $14.31 \pm 6.19 \text{ kgf/mm}^2$ เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Paired t-test พบว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างก่อนและหลังการทดลองของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.001$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ฟันกลุ่มที่ได้รับการทาสาร CPP-ACP มีความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ก่อนการทดลองซึ่งยังไม่ได้รับการทาสาร CPP-ACP พบว่า ผิวเคลือบฟันมีลักษณะขรุขระ ไม่เรียบ มีรูพรุนขนาดใหญ่กระจายเต็มบริเวณผิวเคลือบฟัน มีการหลุดกะเทาะของผิวเคลือบฟันและมีการเปิดของท่อเนื้อฟัน ส่วนหลังการทดลองผิวเคลือบฟันที่ผ่านการทาสาร CPP-ACP พบว่า ผิวฟันมีลักษณะขรุขระน้อยกว่า

เอกสารอ้างอิง

1. Mount GJ, Ngo H. Minimal intervention: a new concept for operative dentistry. *Quintessence Int* 2000;31:527-33.
2. Tsang P, Qi F, Shi W. Medical approach to

- dental caries: fight the disease, not the lesion. *Pediatr Dent* 2006;28:188-91.
3. Roberts AJ. Role of models in assessing new agents for caries prevention-non-fluoride systems. *Adv Dent Res* 1995;9:304-11; discussion 312-4.
 4. Mount GJ. Defining, classifying, and placing incipient caries lesions in perspective. *Dent Clin North Am* 2005;49:701-23
 5. Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J* 2003;48:240-3.
 6. Vieira AE, Delbem AC, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res* 2005;39:514-20.
 7. Recaldent™ [homepage on the internet] Cadbury Enterprise Pte Ltd [updated 15 Nov 2015; cited Oct, 2015] Available from: www.recaldent.com.
 8. Lennon AM, Pfeffer M, Buchalla W, Becker K, Lennon S, Attin T. Effect of a casein/calcium phosphate-containing tooth cream and fluoride on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 2006;40:154-7.
 9. Arends J, Ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992;71 Spec No:924-8
 10. Ten Bosch JJ, Angmar-Månsson B. A review of quantitative methods for studies of mineral content of intra-oral caries lesions. *J Dent Res* 1991;70:2-14.
 11. Material hardness [homepage on the internet] CALCE and the University of Maryland [updated 2015 May 25; cited 2015] Available from: http://www.calce.umd.edu/general/Facilities/Hardness_ad_.htm
 12. Gutierrez-salazar M, Reyes-gasga J. Enamel hardness and caries susceptibility in human teeth. *Rev Latin Am Met Mat* 2001;21:36-40
 13. Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 1998;18:8-16.
 14. Sukasame H, Panich M, Poolthong S. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on hardness of enamel eroded by a cola drink. *CU Dent J* 2005;29:183-94.
 15. Hegde MN, Moany A. Remineralization of enamel subsurface lesions with casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: A quantitative energy dispersive X-ray analysis using scanning electron microscopy: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2012;15(1);61-7
 16. Somani R, Jaidka S, Singh DJ, Arora V. Remineralizing potential of various agents on dental erosion. *J Oral Biol Craniofac Res*.2014;104-108
 17. Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, Fone C, *et al*. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dairy Res* 2006;73:74-8.
 18. Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate.

Caries Res 2004;38:551-6.

19. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2001;80:2066-70.
20. Oshiro M, Yamaguchi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa A, *et al.* Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci* 2007;49:115-20.
21. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent* 2006;34:230-6.
22. de Oliveira PR, Fonseca AB, Silva EM, Coutinho TC, Tostes MA. Remineralizing potential of CPP-ACP cremes with and without fluoride in artificial enamel lesions. *Aust Dent J* 2015 Jan 27: doi: 10.1111/adj.12305. [Epub ahead of print]
23. Turssi CP, Maeda FA, Messias DCF, Rehder Neto FC, Serra MC, Galafassi D. Effect of potential Remineralizing agents on acid softened enamel. *Am J Dent* 2011;24:165-8

Comparative Cytotoxicity and Biocompatibility of Two Aluminum Chloride Local Hemostatic Agents

Pintu-on Chantarawaratit¹, Pravej Serichetaphongse², Watcharaporn Tasachan³ and Pasutha Thunyakitpisal^{4,5}

¹Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

²Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

³Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

⁴Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

⁵Research Unit of Herbal Medicine, Biometarial and Metarial for Dental Treatment, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Correspondence to:

Pasutha Thunyakitpisal. Department of Anatomy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, 34 Henri-Dunant Rd, Patumwan, Bangkok, 10330 Thailand Tel: 02-218-8885, 081-713-3311 E-mail: pthunyak@yahoo.com

Abstract

The objective of this study was to evaluate the cytotoxicity and biocompatibility of two aluminum chloride containing local hemostatic agents, Racestypine and a local hemostatic agent prototype, Dent-Chula100[®]. To determine cytotoxicity, primary human gingival and pulpal fibroblasts were treated with the local homeostatic agents at concentrations of 0.1, 1.0, 2.5, 5.0 or 10.0 % (v/v) for 15 minutes. The MTT assay was used, with untreated cells serving as control. The biocompatibility test was performed using the lower incisors of twelve 8-week old male Sprague Dawley rats. The free gingival margin of the lower central incisors was temporarily displaced for 15 minutes using retraction cords soaked with Racestypine or Dent-Chula100[®]. Cords soaked with normal saline served as a control. Seven days after treatment, the lower jaws were dissected. The H&E stained tissue sections were histopathologically examined for four pathologic index scores; degree of sulcular epithelium damage, collagen fiber appearance and orientation, inflammation and vascular reaction. Two-way ANOVA and Kruskal-Wallis tests were performed for statistical analysis of the *in vitro* and *in vivo* studies, respectively ($p < 0.05$). Our data revealed that Dent-Chula100[®] at 5.0 % - 10.0 % significantly reduced gingival fibroblast cell viability compared with the control group ($p < 0.05$), while Racestypine at 2.5 % - 10.0 % significantly decreased cell viability ($p < 0.05$). Both Dent-Chula100[®] and Racestypine at 2.5 % significantly reduced pulpal fibroblast cell viability ($p < 0.05$). The histopathological data indicated that the periodontal tissues did not incur any significant damage

after exposure to Dent-Chula100[®] or Racestypine. In conclusion, the cytotoxicity of Dent-Chula100[®] and Racestypine was dose-dependent. The *in vivo* study revealed that both Dent-Chula100[®] and Racestypine were biocompatible with gingival tissues.

Key words: Aluminum chloride; Biocompatibility; Cytotoxicity; Local hemostatic agent

Received Date: Nov 9, 2015, Accepted Date: Mar 22, 2016

doi: 10.14456/jdat.2016.9

Introduction

Local hemostatic agents have been widely used in prosthodontic and operative dentistry because of their effectiveness, safety and convenience.^{1,2} Ideally, local hemostatic agents should provide not only a sufficient hemostatic effect, but also be biocompatible with oral tissues.^{3,4} To reduce the cost of dental treatment and strengthen Thailand's biomaterials research, our group has developed a local hemostatic agent prototype, Dent-Chula100®.

A previous study has reported that Dent-Chula100® did not affect the physical and mechanical properties of the light-cured resin composite filling materials evaluated.⁵ Following ISO 4049:2009, Dent-Chula100® was demonstrated to not affect the solubility, water absorption, depth of cure or flexural strength of the light-cured resin composite materials. However, the cytotoxicity and biocompatibility of this local hemostatic agent have not been investigated. Therefore, the purpose of this study was to examine the cytotoxic effect of Dent-Chula100® on primary human gingival and pulpal fibroblasts. The biocompatibility of this local hemostatic prototype on gingival tissue was also investigated using an animal model.

Materials and Methods

The hemostatic agent Racestypine (Septodont, PA, USA; 25 % aluminum chloride, oxyquinol and hydroalcoholic excipient) was used as the reference material compared with our local hemostatic agent prototype Dent-Chula100® (Research Unit of Herbal Medicine, Biomaterial

and Material for Dental Therapy, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, BKK, Thailand; 25 % aluminum chloride, 30 % ethanol and distilled water). The Racestypine's expiration date was at least 6 months after the experiments were performed.

In vitro study

pH measurement

The pH of the local hemostatic agents was measured with a pH meter (Orion 420A pH Meter, Orion Research Inc., Boston, MA, USA). The measurements were repeated 3 times. The results were expressed as mean and standard deviation.

Cell culture

Following a protocol approved by the Human Research Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Thailand (HREC-DCU 2012-043), pulpal and gingival tissues were obtained from non-carious, impacted third molars and adjacent non-inflamed healthy gingiva of 18 - 25 year-old healthy donors. The tissues were washed 3 times with phosphate buffered saline solution (PBS), cut into 1 - 2 mm³ pieces and placed into 35-mm culture dishes. The explants were incubated with growth media (Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10 % fetal bovine serum, 10,000 IU/ml penicillin G sodium, 100,000 µg/ml streptomycin sulfate, 25 µg/ml amphotericin B, and 1 % L-glutamine) at 37°C in a 5 % CO₂ atmosphere. The media was replaced every two days. When the cells reached confluence, the cells were subcultured using 0.25 % trypsin - EDTA solution. All materials were obtained from Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA. In the present study, the experiments were performed using

cells from the third - fifth passages. Three donor lines were evaluated.

MTT viability assay

The MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay was performed as previously described.⁶ Briefly, 5×10^4 cells per well were seeded in 24-well plates for 24 h. The cells were then washed twice with PBS and treated with the local hemostatic agents at concentrations of 0.1, 1.0, 2.5, 5.0 or 10.0 % (v/v) in growth media for 15 minutes. The pH of each final concentration of the hemostatic agents in DMEM is shown in Table 1. Cells incubated with growth medium alone served as the control group. Subsequently, the cells were washed 3

times with PBS and incubated with growth media for 24 h.

To assess cell viability, the cells were washed twice with PBS and incubated with 0.5 mg/ml MTT solution for 10 minutes. The precipitated formazan crystals were dissolved using dimethyl sulfoxide (DMSO). The optical density was determined by measuring the light absorbance at 570 nm with an Epoch Microplate Spectrophotometer (BioTek Instrument, Winooski, VT, USA). The background DMSO absorbance was subtracted from the sample absorbance. The experiments were repeated 3 times.

Table 1 pH of the hemostatic agents in DMEM

Concentration of the hemostatic agent in DMEM (V/V)	pH	
	Dent - Chula100 [®]	Racestypine
100.0	1.79 ± 0.01	0.97 ± 0.09
10.0	3.70 ± 0.02	3.56 ± 0.06
5.0	4.00 ± 0.02	3.85 ± 0.03
2.5	4.80 ± 0.02	4.50 ± 0.07
1.0	6.85 ± 0.01	6.44 ± 0.03
0.1	7.22 ± 0.07	7.20 ± 0.03

Note: pH of DMEM = 7.23 ± 0.04

In vivo study

Following a protocol approved by the Animal Research Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Thailand (Protocol No. 1132001), twelve male Sprague Dawley rats (8 weeks old, average weight 350 g) were obtained from the National Laboratory Animal Center, Nakhon Pathom, Thailand. The rats were kept on a 12-h light/12-h dark cycle, fed a standard pellet diet and allowed access to water and food ad libitum. The animals received general anesthesia consisting of 80 mg/kg Zoletil® (chloral hydrate tiletamine and chloral hydrate zolazepam; Virbac Laboratories, Carros, France). The twenty-four lower incisors were washed with normal saline and randomly divided into 3 groups: normal saline (control), Racestyptine-, and Dent-Chula100®-treated groups. Fifteen mm of retraction cord (No. 000, Ultrapack, Ultradent Products, Inc., UT, USA) were soaked with 100 µl of the respective group's material for 10 minutes. The free gingival margins of the incisors were temporarily displaced by the soaked retraction cord for 15 minutes and the cords were then removed.

Seven days after treatment, the animals were sacrificed. The lower jaws were dissected, fixed in 10 % neutral formalin buffer and demineralized in 10 % formic acid. The tissues were dehydrated using graded ethanol-acetone

solutions, followed by paraffin embedding. Five-µm thick serial sections were prepared in the sagittal (labio-lingual) plane. Three sections were selected from each specimen. The first section was obtained from the center of the tooth. The 2nd and 3rd sections were obtained 100 µm mesially and distally to the first section, respectively. The sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E), scanned and captured using the OLIVIA program (Olympus, Tokyo).

Histomorphometric analysis

Histomorphometric analysis was performed on the stained sections using the Image Pro-Plus program, version 6.0 (Media Cybernetics, USA). The examined area was localized as shown in Fig. 1. The *a* line was parallel to the root surface. The apical border (*b* line) and occlusal border (*c* line) of the localized area were set by the lines drawn through the lowest point of the junctional epithelium and the highest point of the free gingival margin, respectively. The *b* and *c* lines were perpendicular to the *a* line (Fig. 1).

Four histopathological indexes (Table 2) consisting of degree of sulcular epithelium damage, collagen fiber appearance and orientation, inflammation and vascular reaction were modified from Akca *et al.*⁷ and used to evaluate each stained section.

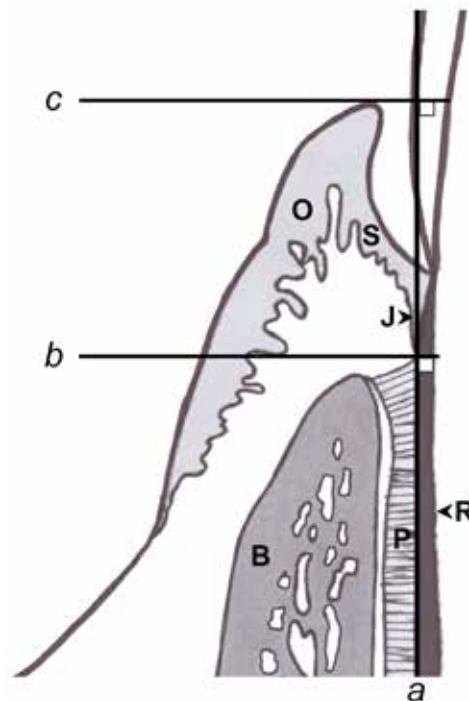


Figure 1 Schematic illustration of the localized area of the gingival sulcus and surrounding periodontium. *J* = junctional epithelium, *S* = sulcular epithelium, *O* = oral epithelium, *B* = alveolar bone, *P* = periodontal ligaments, *R* = root surface. The *a* line is parallel to the root surface, *b* line = apical border of the localized area that was set at the lowest point of the junctional epithelium, *c* line = occlusal border of the localized area that was set at the highest point of the free gingival margin, *b* and *c* lines are perpendicular to the *a* line.

Table 2 Histopathological index [modified from Akca et al.⁷]

Score	Degree of sulcular epithelium damage
0	No damage (epithelium is attached to the connective tissue.)
1	Slight damage (epithelium attachment to connective tissue is disrupted.)
2	Moderate damage (epithelial desquamation is evident.)
3	Severe damage (epithelium is completely detached from the connective tissue.)
Score	Collagen fiber appearance and orientation
0	No alteration in connective tissue (collagen fibers intact and orientation normal)
1	Minor alteration in the connective tissue (collagen fibers intact but orientation disrupted)

Table 2 Histopathological index [modified from Akca et al.⁷] (continue)

Score	Collagen fiber appearance and orientation (Continue)
2	Moderate alteration in connective tissue (collagen fibers disrupted and fragmented, but identifiable; orientation of fibers disrupted)
3	Severe alteration in connective tissue (collagen fibers are not identifiable; the region appears as an amorphous mass)
Score	Inflammation (Cells were counted under a 40X object magnification)
0	No inflammation
1	Slight inflammation [minor inflammatory cells in the region, < 10 cells/ localized area (40X)]
2	Moderate inflammation [identifiable inflammatory cells in the region, 10 - 50 cells/localized area (40X)]
3	Severe inflammation [abundant inflammatory cells in the region, > 50 cells/localized area (40X)]
Score	Vascular reaction (Cells were counted under a 40X object magnification)
0	Normal, no vasodilation, no congestion
1	Small amount of congested blood vessels [< 10 vessels/localized area (40X)]
2	Moderate amount of congested blood vessels [10 - 20 vessels/localized area (40X)]
3	Large amount of congested blood vessels [> 20 vessels/localized area (40X)] or dilated blood vessels

Statistical Analysis

The data were collected and analyzed using the SPSS program for Windows, version 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). For the *in vitro* study, the results were expressed as mean \pm standard deviation. The percentage of cell viability was statistically analyzed by two-way analysis of

variance (ANOVA) and the Bonferroni multiple comparison test. For the *in vivo* study, the results were expressed as median and interquartile range. The scores of each index were analyzed by the Kruskal-Wallis test to evaluate the differences between groups. Values of $p < 0.05$ were considered as significant.

Results

Cytotoxicity of the local hemostatic agents on gingival fibroblasts

The mean pH of Dent-Chula100[®] and Racestypine was 1.79 ± 0.01 and 0.97 ± 0.09 , respectively (Table 1). Racestypine significantly decreased the gingival fibroblast cell viability at concentrations of 2.5 %, 5.0 % and 10.0 % (v/v),

while Dent-Chula100[®] significantly decreased cell viability at concentrations of 5.0 % and 10.0 % (v/v), compared with the untreated group ($p < 0.05$, Fig. 2). Moreover, at concentrations of 2.5 %, 5.0 % and 10.0 % (v/v), the viability of Dent-Chula100[®]-treated gingival fibroblast group was significantly higher than that of the Racestypine-treated group ($p < 0.05$, Fig. 2).

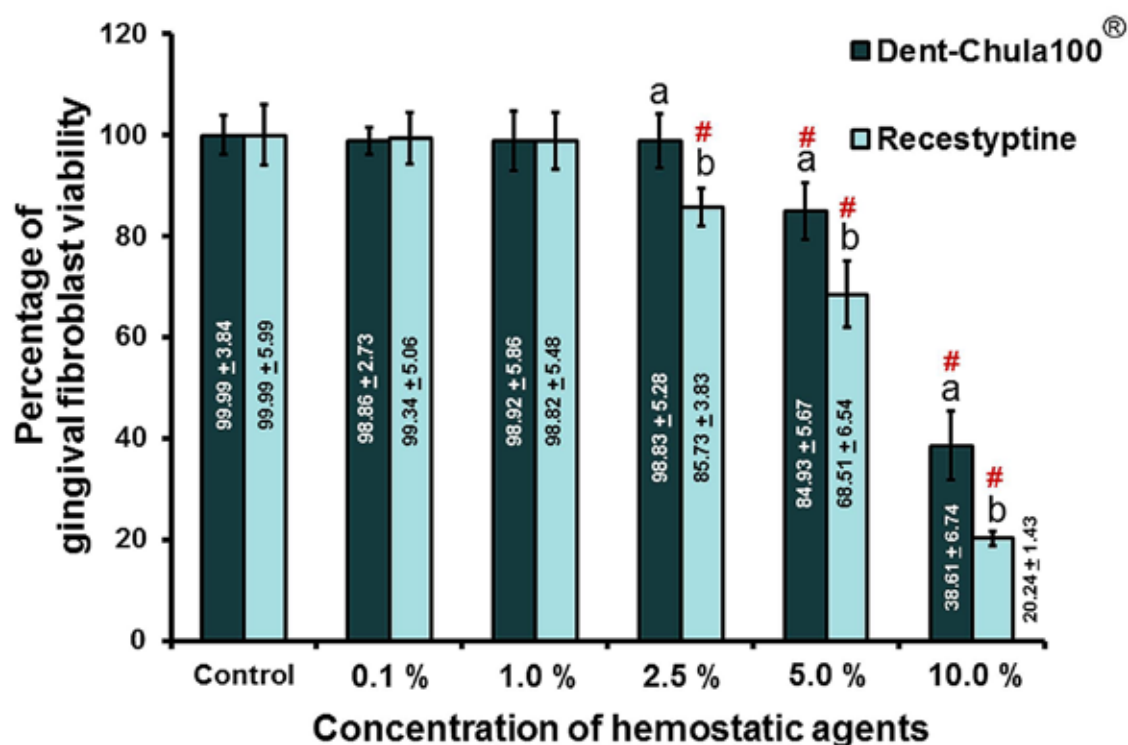


Figure 2 Percentage of cell viability of human gingival fibroblasts treated with the local hemostatic agents for 15 minutes and incubated with growth medium for 24 h (MTT assay). Bars labeled with # indicates statistically significant difference between treated and control groups ($p < 0.05$, $N = 3$). Bars labeled with different letters (a, b) indicates statistically significant difference between the Dent-Chula100[®] and Racestypine-treated groups ($p < 0.05$, $N = 3$).

At concentrations of 0.1 % and 1.0 % (v/v), the pulpal fibroblast viability in both local hemostatic agent groups was not significantly different from the untreated group. However, at higher concentrations, a significant difference was detected. Dent-Chula100[®] and Racestypine

significantly decreased pupal cell viability at concentrations of 2.5 %, 5.0 % and 10.0 % (v/v) compared with the control ($p < 0.05$, Fig. 3). However, there were no significant differences between the Dent-Chula100[®] and Racestypine groups at any concentration (Fig. 3).

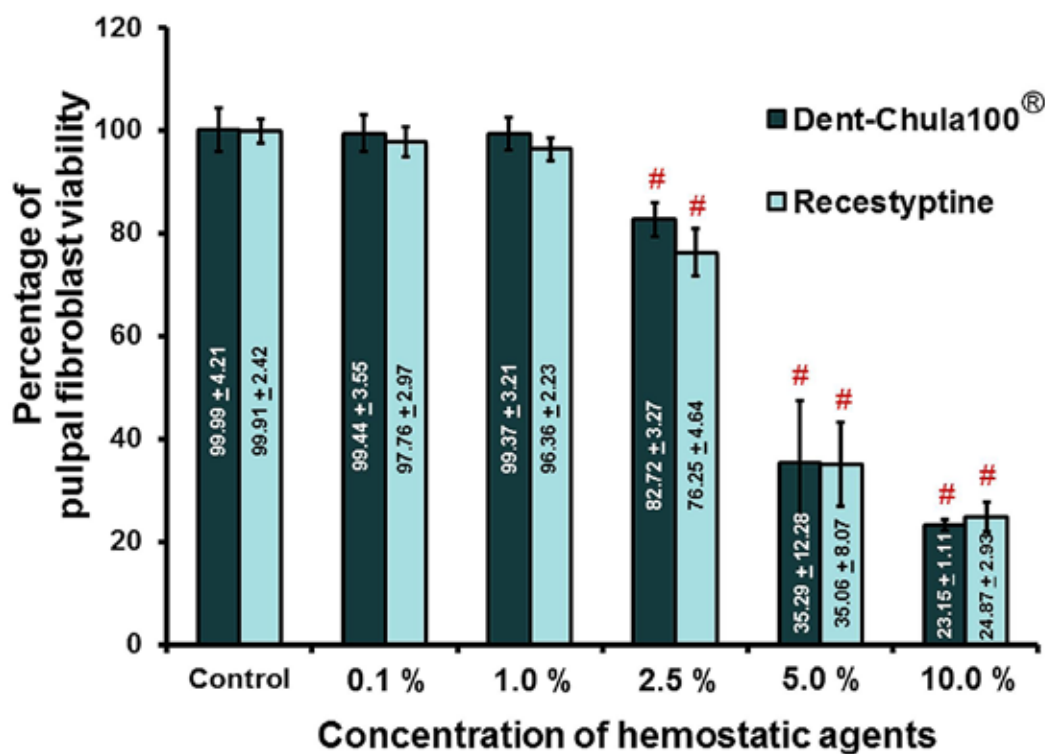


Figure 3 Percentage of cell viability of human pulpal fibroblasts treated with the local hemostatic agents for 15 minutes and incubated with growth medium for 24 h (MTT assay). Bars labeled with # indicates statistically significant difference between treated and control groups ($p < 0.05$, $N = 3$). Pulpal fibroblast cell viability was not significantly different between the Dent-Chula100® and Racestypine-treated groups at any concentration ($N = 3$).

Gingival and periodontal tissue response to the local hemostatic agents

No animals died during or after the experiment. Seven days after treatment, clinically healthy gingiva was observed in all groups. The histopathologic assessment was evaluated based on 4 criteria; degree of sulcular epithelium damage, collagen fiber appearance and orientation, inflammation and vascular reaction.

The percentages of normal sulcular epithelium observed in the control group, Dent-Chula100® and Racestypine groups were 50 %, 37.5 % and 37.5 %, respectively. The scores of the degree of sulcular epithelium damage

were not significantly different between the control, Dent-Chula100® and Racestypine groups (Table 3). In all the groups, 100 percent normal collagen fiber appearance and orientation was observed (Table 4, Fig. 4). The Dent-Chula100® and Racestypine groups demonstrated slightly more inflammation and amount of congested blood vessels than those of the control group. However, the scores of the inflammation and vascular reaction of the control, Dent-Chula100® and Racestypine groups were not significantly different (Tables 5 - 6, Fig. 4). Taken together, these results indicate that the control group had a slightly healthier tissue appearance than that of the Dent-Chula 100® and Racestypine groups.

Table 3 *Sulcular epithelium damage*

Groups	Degree of sulcular epithelium damage					
	Score = 0 (N)	Score = 1 (N)	Score = 2 (N)	Score = 3 (N)	Median	Interquartile range
Control (N = 8)	4	3	1	0	0.5	1
Dent-Chula100 [®] (N = 8)	3	4	1	0	1	1
Racestyptine (N = 8)	3	3	2	0	1	1.25

Table 4 *Collagen fiber appearance and orientation*

Groups	Degree of sulcular epithelium damage					
	Score = 0 (N)	Score = 1 (N)	Score = 2 (N)	Score = 3 (N)	Median	Interquartile range
Control (N = 8)	8	0	0	0	0	0
Dent-Chula100 [®] (N = 8)	8	0	0	0	0	0
Racestyptine (N = 8)	8	0	0	0	0	0

Table 5 *Inflammation*

Groups	Degree of sulcular epithelium damage					
	Score = 0 (N)	Score = 1 (N)	Score = 2 (N)	Score = 3 (N)	Median	Interquartile range
Control (N = 8)	5	3	0	0	0	1
Dent-Chula100 [®] (N = 8)	4	4	0	0	0.5	1
Racestyptine (N = 8)	3	5	0	0	1	1

Table 6 Vascular reaction

Groups	Degree of sulcular epithelium damage					
	Score = 0 (N)	Score = 1 (N)	Score = 2 (N)	Score = 3 (N)	Median	Interquartile range
Control (N = 8)	2	1	3	2	2	1.5
Dent-Chula100® (N = 8)	0	2	3	3	2	1.25
Racestyptine (N = 8)	0	2	2	4	3	1

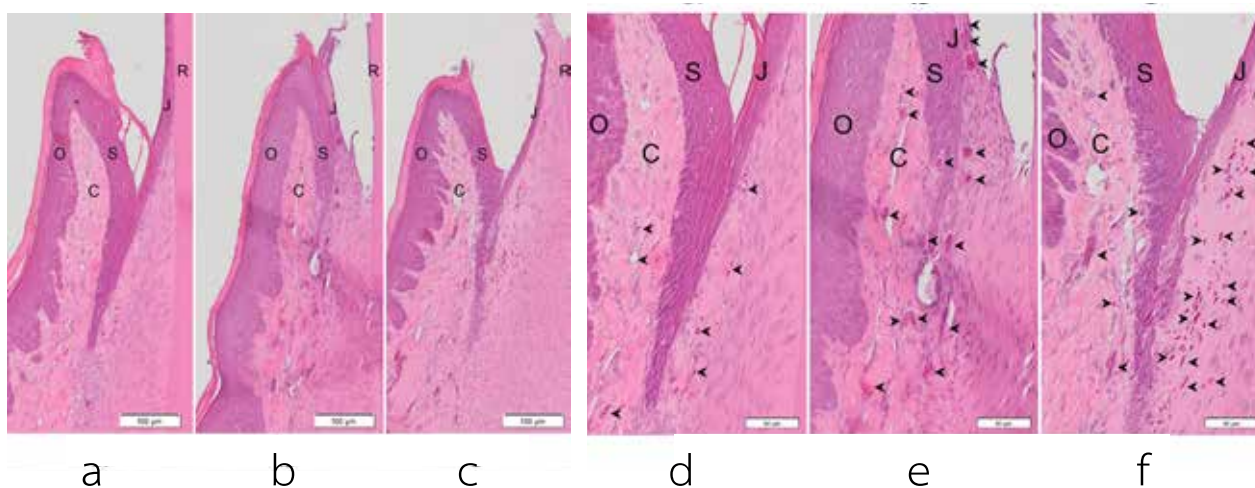


Figure 4 Representative histopathological images of the gingival sulcus of the control group (a, d), Racestyptine group (b, e) and Dent-Chula100® group (c, f) 7 days after treatment at 10X magnification (a - c) and 40X magnification (d - f). Normal appearance of the sulcular and junctional epithelium is present in all groups. Normal appearance of the collagen fiber orientation is also seen. Inflammatory cells are rarely seen in any group. Dilated and congested capillaries are present in the Racestyptine and Dent-Chula100®-treated groups. J = junctional epithelium, S = sulcular epithelium, O = oral epithelium, C = connective tissue, R = root surface, black arrowheads = congested capillaries, scale bar = 100 μ m (a - c), 50 μ m (d - f).

Discussion

Local hemostatic agents have been used in operative and prosthodontic dentistry for hemostasis and in retraction cord used in the temporary displacement of the free gingival margin. Both clinical and animal studies have shown that gingival retraction methods tend to produce transient damage to the gingival sulcus epithelium, junctional epithelium and the underlying gingival tissue.^{7,8} Consequently, gingival fibroblasts can be directly exposed to local hemostatic agents via the disruption of the epithelial layer by the retraction procedure.⁹⁻¹³ In addition to its use in retraction cord for the temporary displacement of the gingival margin, local hemostatic agents are also used to control pulp bleeding before direct pulp capping and pulpotomy procedures.¹⁴⁻¹⁶ Therefore, the cytotoxicity of the hemostatic agents on human gingival fibroblasts and dental pulp fibroblasts was evaluated in our study.

The clinical application of gingival retraction cord is usually not longer than 10 minutes.¹⁷ However, local hemostatic agents can remain in the gingival sulcus after removing the retraction cord. To confirm the toxicity and biocompatibility of the two hemostatic agents in our study, we used an exposure time of 15 minutes in our *in vitro* and *in vivo* studies.

Cytotoxicity evaluation is necessary to assess the biocompatibility of dental materials.⁶ According to ISO 10993-5, the MTT assay is an acceptable method to evaluate the cytotoxicity of a biomaterial. This assay measures the conversion of a yellow water-soluble MTT dye

into a purple formazan crystal that is produced by active mitochondria.⁶ This colorimetric method is recommended as an economic, accurate and reliable test for cytotoxicity determination.^{18,19} The MTT test not only evaluates cell - biomaterial interaction, but also relates to the number of viable cells.^{6,20} In our study, the MTT assay was used to determine the viability of cells after exposure to local hemostatic agents. Aluminum chloride, the active ingredient in Dent-Chula100[®] and Racestypine, has been reported to be an effective and commonly used hemostatic agent.^{17,21,22} The hemostatic effect of aluminum chloride is due to its aluminum ions, which act primarily by precipitating tissue proteins and inhibiting the transcapillary movement of plasma proteins.^{2,21} Moreover, aluminum ions have no systemic contraindications and few effects on vasoconstriction.^{2,23}

The cytotoxicity of Dent-Chula100[®] and Racestypine likely results from their active ingredient, aluminum chloride.^{4,7,16} Acidity is an important property of aluminum chloride. To prepare a hemostatic agent, aluminum chloride is dissolved in alcohol. This reaction turns the neutral pH of alcohol into a powerful acidic solution. Thus, higher concentrations of aluminum chloride results in increased acidity of that solution. Indeed, we observed that cell proliferation was not affected at aluminum chloride pH levels near physiologic pH. In contrast when the aluminum chloride pH dropped precipitously at concentrations of 2.5 % and above, cell cytotoxicity rose in kind. The results of our study indicated that the local hemostatic agents, at concentrations of 2.5, 5.0 and 10.0 %

(v/v) reduced the cell viability of gingival and pulpal fibroblasts. These results are consistent with those of Kopac *et al.* who found that 10 %, 50 % and 100 % (v/v) of 25 % aluminum chloride in culture medium reduced cell viability.^{3,4}

In previous animal and clinical studies, aluminum chloride has been reported to have a deleterious effect on tissue.^{7,8,13} Used as a hemostatic agent, aluminum chloride caused hydrotropic degeneration, hyperemia and an inflammatory cell infiltration.¹³ However, aluminum chloride is still the most popular gingival retraction agent.^{2,9} In our study, histomorphometric analysis showed that 25 % aluminum chloride was biocompatible with the sulcular epithelium and underlying connective tissue compared with normal saline.

We found that inflammatory cells were rarely detected in the tissue sections of any group 7 days post-treatment. From our review of the literature, studies on the effect of aluminum chloride on the inflammatory cell response are inconclusive.⁷⁻⁹ Kopac *et al.* reported that Racestypine-treated gingival tissue in animals showed a severe inflammatory cell infiltration 7 days after treatment.⁸ In contrast, an animal study by Acka *et al.* found that aluminum chloride only induced a slight inflammatory cell infiltration into the gingival tissue.⁷ Moreover, a clinical study by de Gennaro *et al.* revealed that there was no significant difference in gingival inflammation between the untreated control group and aluminum chloride-treated group 7 days post-treatment.⁹ A possible explanation for this variation is the differences in immune responses among rats, dogs and humans.⁷

A vascular reaction was the only sign of inflammation present in our histologic results. A vascular reaction is an early sign of acute inflammation.²⁴ Vasodilation and increased blood vessel permeability occurring after a chemical stimulus results in decreased blood flow and dense packing of red blood cell in capillaries.²³⁻²⁵ In our study, more congested and dilated capillaries were found in the Dent-Chula100® and Racestypine groups than that of the control group; however, the difference was not significant.

In our *in vivo* study, the power analysis of the four histopathological indices; degree of sulcular epithelium damage, collagen fiber appearance and orientation, inflammation and vascular reaction, were varied. For the inflammation and vascular reaction indexes, the power analysis, 0.85 and 1.00, respectively, were acceptable. However, the power analysis of the collagen fiber appearance and orientation and degree of sulcular epithelium damage were low (0 and 0.27, respectively). The reason for this is that none or very slight differences were observed between the groups. To achieve the appropriate power of all 4 indices, 180 animals for the experimental, commercial and control groups were required. Therefore, to minimize the number of animals used in our study, the sample size was set as eight for each group.

Dent-Chula100® has demonstrated *in vivo* biocompatibility at 7 days post-treatment and did not affect the physical and mechanical properties of light-cured resin composite filling materials.⁵ Future clinical studies on the safety and effectiveness of Dent-Chula100® are still required.

Conclusion

In our *in vitro* study, Dent-Chula100® had a cytotoxic effect on human gingival fibroblasts and pulpal fibroblasts at 2.5 % and 5 % v/v, respectively. However, Dent-Chula100® and Racestyptine were biocompatible with gingival tissues seven days after treatment. Our data suggests that Dent-Chula100® is a safe local hemostatic agent.

Acknowledgement

We thank Professor Visaka Limwong and Associate Professor Dr. Dolly Methatharathip for their valuable suggestions. This work was supported by the 100th Anniversary of Chulalongkorn University Fund (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund). For assisting with histomorphometric analysis, we thank Associate Professor Dr. Wijit Banlunara, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University. We thank Dr. Kevin Tompkins, Chulalongkorn University, for assisting with the manuscript.

References

1. Benson BW, Bomberg TJ, Hatch RA, Hoffman W Jr. Tissue displacement methods in fixed prosthodontics. *J Prosthet Dent* 1986;55:175-81.
2. Donovan TE, Gandara BK, Nemetz H. Review and survey of medicaments used with gingival retraction cords. *J Prosthet Dent* 1985;53:525-31.
3. Liu CM, Huang FM, Yang LC, Chou LS, Chou MY, Chang YC. Cytotoxic effects of gingival retraction cords on human gingival fibroblasts in vitro. *J Oral Rehabil* 2004;31:368-72.
4. Kopac I, Batista U, Cvetko E, Marion L. Viability of fibroblasts in cell culture after treatment with different chemical retraction agents. *J Oral Rehabil* 2002;29:98-104.
5. Serichetaphongse P, Tasachan W, Sahawat D, Thunyakitpisal P. Effect of gingival retraction solution prototype (Dent-Chula100) on the water absorption, water solubility, depth of cure and flexural strength of light cured composite resins following ISO 4049 (2009). *CU Dent J* 2011;34:213-22.
6. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55-63.
7. Akca EA, Yildirim E, Dalkiz M, Yavuzylmaz H, Beydemir B. Effects of different retraction medicaments on gingival tissue. *Quintessence Int* 2006;37:53-9.
8. Kopac I, Cvetko E, Pavlica Z, Marion L. Gingival tissue inflammatory response following treatment with chemical retraction agents in Beagle dogs. *Pflugers Arch* 2001;442:R145-6.
9. de Gennaro GG, Landesman HM, Calhoun JE, Martinoff JT. A comparison of gingival inflammation related to retraction cords. *J Prosthet Dent* 1982;47:384-6.
10. Harrison JD. Effect of retraction materials on the gingival sulcus epithelium. *J Prosthet Dent* 1961;11:514-21.
11. Woychesshin FF. An evaluation of the drugs used for gingival retraction. *J Prosthet Dent*

- 1964;14:769-76.
12. Ruel J, Schuessler PJ, Malament K, Mori D. Effect of retraction procedures on the periodontium in humans. *J Prosthet Dent* 1980;44:508-15.
 13. Phatale S, Marawar PP, Byakod G, Lagdive SB, Kalburge JV. Effect of retraction materials on gingival health: a histopathological study. *J Indian Soc Periodontol* 2010;14:35-9.
 14. Odabaş ME, Ertük M, Çınar Ç, Tüzüner T, Tulunoğlu Ö. Cytotoxicity of a new hemostatic agent on human pulp fibroblasts in vitro. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;16:e584-7.
 15. Stanley HR. Pulp capping: conserving the dental pulp--can it be done? Is it worth it? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;68:628-39.
 16. Schröder U. Effect of an extra-pulpal blood clot on healing following experimental pulpotomy and capping with calcium hydroxide. *Odontol Revy* 1973;24:257-68.
 17. Nemetz H, Donovan T, Landesman H. Exposing the gingival margin: a systematic approach for the control of hemorrhage. *J Prosthet Dent* 1984;51:647-51.
 18. Sylvester PW. Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability. *Methods Mol Biol* 2011;716:157-68.
 19. Fotakis G, Timbrell JA. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicol Lett* 2006;160:171-7.
 20. Ciapetti G, Cenni E, Pratelli L, Pizzoferrato A. In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay. *Biomaterials* 1993;14:359-64.
 21. Shah MJ, Mathur S, Shah A, Makwana RG, Shah A. Gingival retraction methods in fixed prosthodontics: a systemic review. *J Dent Sci* 2008;3:4-10.
 22. Tarighi P, Khoroushi M. A review on common chemical hemostatic agents in restorative dentistry. *Dent Res J (Isfahan)* 2014;11:423-8.
 23. Polat NT, Ozdemir AK, Turgut M. Effects of gingival retraction materials on gingival blood flow. *Int J Prosthodont* 2007;20:57-62.
 24. Trowbridge HO, Emling RC. Inflammation : a review of the process. 1st ed Chicago: Quintessence; 1997. p. 3-9
 25. Gleissner C, Kempfski O, Peylo S, Glatzel JH, Willershausen B. Local gingival blood flow at healthy and inflamed sites measured by laser Doppler flowmetry. *J Periodontol* 2006;77:1762-71.

Dimensional Accuracy and Surface Detail Reproduction of Polyvinylsiloxanether Impression Material Tested in Dry, Moist and Wet Conditions

Umaporn Vimonkittipong¹

¹Department of Prosthodontics, Faculty of Dental Medicine, Rangsit University, Pathumthani, Thailand

Correspondence to:

Umaporn Vimonkittipong. Department of Prosthodontics, Faculty of Dental medicine, Rangsit University, 52/347, Muan-Ake Phahonyothin Road Lak-Hok, Pathumthani, 12000 Thailand Tel: 086-5435593 E-mail: mos_aum@hotmail.com

Abstract

The purpose of this study was evaluated dimensional accuracy and surface detail reproduction of polyvinylsiloxanether impression (Identium®light) tested in dry, moist and wet conditions and compared with addition silicone (Panasil®contact plus X-light) and polyether (Impregum™Penta™Soft). Ninety samples for each impression were replicated using stainless steel metal die according to American dental association (ADA) specification No. 19, 30 samples of each condition. Then, (1) dimensional accuracy of dry and moist samples was done by measuring the average length of the middle horizontal line of each impression by measuring microscope with 0.001 millimeters accuracy. Two-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the mean dimensional change of three impressions in dry and moist condition ($\alpha = 0.05$) and studied about time factor by compared length of line between 1 hours and 24 hours by Paired *t*-test. (2) Surface detail reproduction of all above conditions was evaluated following the criteria specified in ADA standard for details reproduction: clear continuous replication at least 2 of 3 horizontal lines. Furthermore, this research also compared the amount of defects on impression. The change of length of dimension accuracy test after 24 hours compare with original model in each impression was signification and condition in dry and moist impression are not affected to dimensional change. Impegum™Penta™Soft impression in moist condition was found the most dimensional change value at 24 hours and there is difference in dimensional accuracy after 24 hours and 1 hours in all types of impression ($p < 0.05$). In dry conditions, all impressions showed a definitive continuous horizontal line with no deformities. In moist conditions, Identium®light, Panasil®contact plus X-light and Impegum™Penta™Soft showed a continuous line 86.7 %, 63.3 % and 100 % respectively. There were no difference in deformities in all three impression materials. In wet conditions, only the Impegum™Penta™Soft impression passed the ADA standard, however many deformities were seen. This study shows dimensional change accuracy for three

impression materials was within ADA standard ($< 0.5\%$) and the polyvinylsiloxanether impression showed excellent detail reproduction in dry condition but not as well as ImpegumTMPentaTMSoft in moist conditions.

Key words: Detail reproduction; Dimensional accuracy; Polyvinylsiloxanether

Received Date: Nov 9, 2015, Accepted Date: Mar 30, 2016

doi: 10.14456/jdat.2016.10

การคงเสถียรภาพเชิงมิติ และการลอกรายละเอียดของวัสดุพิมพ์ปาก พอลิไวนิลไชลอคเซนอีเทอร์ในสภาวะแห้ง ชื้นและเปียก

อุมพร วัฒนกิตติพงษ์¹

¹ ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

อุมพร วัฒนกิตติพงษ์ ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ 52/347 เมืองเอก ถ.พหลโยธิน ต.หลักหก อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000

โทรศัพท์: 086-5435593 อีเมล: mos_aum@hotmail.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อประเมินการคงเสถียรภาพเชิงมิติ และการลอกรายละเอียดของวัสดุพิมพ์ปาก พอลิไวนิลไชลอคเซนอีเทอร์ (ไอเด็นเทียม®ไลท์) เมื่อพิมพ์ในสภาวะแห้ง ชื้น และเปียก โดยเปรียบเทียบกับวัสดุพิมพ์ปากแอตติซันซิลิโคน (พานาซิล® คอนแทคพลัสเอ็กซ์ไลท์) และพอลิอีเทอร์ (อิมพิกุ่ม™เฟ้นตะ™ซอฟต์) โดยวัสดุพิมพ์ปากชนิดละ 90 รอยพิมพ์จะถูกพิมพ์บนโมเดลโลหะต้นแบบตามมาตรฐานการประเมินคุณสมบัติของวัสดุพิมพ์ปาก เบอร์ 19 ของทันตแพทย์สมาคมอเมริกา สภาวะละ 30 รอยพิมพ์ โดยศึกษา (1) ความแม่นยำของการคงเสถียรภาพของรอยพิมพ์ทั้ง 3 ชนิดในสภาวะแห้ง และชื้น โดยวัดความยาวของเส้นแนวราบบนรอยพิมพ์ที่พิมพ์แบบจากโมเดลต้นแบบด้วยเครื่องวัดมิติวัสดุ ความละเอียด 0.001 มิลลิเมตร โดยหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพที่เปลี่ยนแปลงไปจากโมเดลต้นแบบของวัสดุทั้ง 3 ชนิด ภายหลังเก็บรอยพิมพ์ไว้ 24 ชั่วโมงด้วยสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทางที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความยาวของเส้นบนรอยพิมพ์ที่เวลา 1 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ด้วยการทดสอบทีชนิดจับคู่ และศึกษา (2) ความสามารถในการลอกรายละเอียดของวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 ชนิดในทุกสภาวะการพิมพ์ข้างต้น โดยใช้มาตรฐานตามข้อตกลงของทันตแพทย์สมาคมอเมริกาคือ การปรากฏของเส้นแนวราบบนรอยพิมพ์ที่ต่อเนื่องตลอดความยาวของเส้นอย่างน้อยสองในสามเส้น และนอกจากนั้น การวิจัยครั้งนี้ได้เปรียบเทียบจำนวนตำหนิที่เกิดขึ้นจากรอยพิมพ์ทั้ง 3 ชนิดในสภาวะการพิมพ์เดียวกัน ผลการศึกษาพบว่า ความยาวบนรอยพิมพ์ที่เปลี่ยนไปจากโมเดลต้นแบบของวัสดุทั้ง 3 ชนิดเมื่อวัดที่ 24 ชั่วโมงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สภาวะการพิมพ์แห้งและชื้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเสถียรภาพเชิงมิติของวัสดุพิมพ์ปาก รอยพิมพ์ของวัสดุพิมพ์ปากอิมพิกุ่มเฟ้นตะซอฟต์ในสภาวะชื้นมีค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงความยาวจากโมเดลต้นแบบมากที่สุด และพบว่าเวลาเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อเสถียรภาพ เนื่องจากความยาวบนรอยพิมพ์ของวัสดุแต่ละชนิดเมื่อวัดที่ 24 ชั่วโมงมีความแตกต่างกับเมื่อวัดที่ 1 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ในสภาวะแห้งรอยพิมพ์ทุกชนิดมีการลอกเลียนรายละเอียดโดยปรากฏเส้นแนวราบที่ต่อเนื่องชัดเจน ไม่พบตำหนิใด ๆ ในสภาวะการพิมพ์ที่ชื้น วัสดุพิมพ์ปากไอเด็นเทียม®ไลท์ พานาซิล® คอนแทคพลัสเอ็กซ์ไลท์ และอิมพิกุ่ม™เฟ้นตะ™ซอฟต์ สามารถลอกรายละเอียดคิดเป็น ร้อยละ 86.7, 63.3 และ 100 แต่ไม่พบความแตกต่างของตำหนิที่เกิดขึ้นในวัสดุทั้ง 3 ชนิด และเมื่อพิมพ์ในสภาวะเปียกมีเพียงวัสดุพิมพ์ปากอิมพิกุ่ม™ที่ผ่านเกณฑ์ตามมาตรฐานทันตแพทย์สมาคมอเมริกา แต่พบตำหนิบนรอยพิมพ์หลายตำแหน่ง สรุปว่า การเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพของรอยพิมพ์ของวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 ชนิดมีค่าไม่เกินตามที่มาตรฐานกำหนด (น้อยกว่าร้อยละ 0.5) และวัสดุพิมพ์ปากไอเด็นเทียม®ไลท์สามารถลอกรายละเอียดได้ดีในสภาวะแห้ง แต่ในสภาวะชื้นวัสดุชนิดนี้ยังมีการลอกเลียนรายละเอียดได้ต่ำกว่าอิมพิกุ่ม™เฟ้นตะ™ซอฟต์

คำสำคัญ: การลอกรายละเอียด; การคงเสถียรภาพเชิงมิติ; พอลิไวนิลไชลอคเซนอีเทอร์

การบูรณะฟันด้วยครอบฟันหรือการทดแทนฟันที่สูญเสียไปด้วยสะพานฟัน ทันตแพทย์ไม่สามารถสร้างชิ้นงานโดยตรงในช่องปากได้ ดังนั้น คุณสมบัติของวัสดุพิมพ์ปากที่สามารถลอกรายละเอียดของฟันหลัก (detail reproduction) ได้อย่างชัดเจน ครบถ้วน และความสามารถคงเสถียรภาพเชิงมิติของวัสดุพิมพ์ปาก (dimension accuracy) คือ การคงรูปร่างและเกิดการเปลี่ยนแปลงขนาดของรอยพิมพ์น้อยที่สุดเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวเป็นคุณสมบัติที่ต้องการในอุดมคติของวัสดุพิมพ์ปาก^{1,2} ที่ส่งผลให้กระบวนการทางห้องปฏิบัติการทันตกรรมแลบสามารถสร้างชิ้นงานที่ได้ขอบครอบฟันและสะพานฟันที่แนบสนิทกับฟันหลักในผู้ป่วย^{3,4} ปัจจัยที่มีผลต่อการคงเสถียรภาพเชิงมิติของวัสดุพิมพ์ปาก⁵⁻⁷ ได้แก่ ความชื้น ช่วงเวลาภายหลังการผสมวัสดุพิมพ์ปากจนเทแบบปูน ความหนาของวัสดุพิมพ์ปากในถาดพิมพ์ปาก สารที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงเป็นสารพอลิเมอร์ที่มีองค์ประกอบของสารที่ระเหยได้ (sub-product in polymerization) การสูญเสียความยืดหยุ่นของวัสดุพิมพ์ปาก⁸ และสารที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อโรคบนพื้นผิวรอยพิมพ์⁹ การประเมินเสถียรภาพเชิงมิติของวัสดุพิมพ์ปากมีหลายวิธี เช่น การวัดโดยตรงจากรอยพิมพ์ของวัสดุพิมพ์ปากที่เปลี่ยนแปลงจากแม่แบบโลหะตั้งต้นที่ใช้ในการพิมพ์^{10,11} การวัดการเปลี่ยนแปลงจากแบบปูนภายหลังการเทแบบพิมพ์จากวัสดุพิมพ์ปาก^{7,12} การประเมินการเปลี่ยนแปลงจากแบบพิมพ์เป็นการวัดที่แม่นยำ โดยไม่นำปัจจัยเรื่องการหดขยายของปูนมาเกี่ยวข้อง ตามมาตรฐานการประเมินคุณสมบัติของวัสดุพิมพ์ปากชนิดยืดหยุ่นเบอร์ 19 ของทันตแพทย์สมาคมอเมริกา (American Dental Association Specification No. 19; ADA)¹³ และองค์การระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรฐานของวัสดุพิมพ์ปากชนิดยืดหยุ่น (ISO 4823)¹⁴ ได้กำหนดมาตรฐานของวัสดุพิมพ์ปากไปทางเดียวกันคือ วัสดุพิมพ์ปากชนิดยืดหยุ่นที่มีความหนืดน้อย (low viscosity) มีเสถียรภาพเชิงมิติที่เปลี่ยนแปลงได้จาก

การหดตัวระหว่างเกิดปฏิกิริยาและภายหลังเอารอยพิมพ์ออกจากช่องปาก แต่ไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลงมากกว่าร้อยละ 0.5 เมื่อวัตรอยพิมพ์ที่ 24 ชั่วโมง นอกจากนี้เป็นที่รู้กันว่า การพิมพ์ในสภาวะการพิมพ์ที่แห้งจะทำให้วัสดุพิมพ์ปากสามารถลอกเลียนรายละเอียดได้ดีและชัดเจน แต่เนื่องจากการพิมพ์ปากในผู้ป่วยอาจมีความจำเป็นต้องวางแผนให้ขอบของครอบฟันอยู่ใต้เหงือกเพื่อความสวยงามซึ่งมีความชื้นจากน้ำเหลืองเหงือก (gingival crevice fluid) หรืออาจมีเลือดออกขณะพิมพ์ ซึ่งทำให้การลอกเลียนรายละเอียดทำได้ไม่ชัดเจน ปัจจุบันผู้ผลิตจึงพัฒนาวัสดุพิมพ์ปากให้มีคุณสมบัติในการวิ่งเข้าหาน้ำหรือไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) เพื่อให้การพิมพ์ปากในบริเวณที่ไม่สามารถกันความชื้นได้ วัสดุพิมพ์ปากสามารถวิ่งเข้าหาบริเวณส่วนใต้เหงือกซึ่งมีความชื้นเพื่อลอกรายละเอียดของเส้นสิ้นสุด (finishing line) บนฟันหลักได้อย่างชัดเจน^{4,15} แต่คุณสมบัตินี้อาจเกิดปัญหาการดึงน้ำจากบรรยากาศหรือในสภาวะที่มีความชื้นสูงได้หากวัสดุพิมพ์ปากถูกเก็บไว้ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ตัวอย่างเช่น สภาวะแวดล้อมที่มีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่าร้อยละ 50¹⁶ สามารถทำให้วัสดุพิมพ์ปากพอลิเอเทอร์ (polyether impression) มีการบวมหรือขยายขนาดของรอยพิมพ์ได้ (hygroscopic expansion) ส่งผลต่อความเสถียรภาพของรอยพิมพ์¹⁷ วัสดุพิมพ์ปากพอลิเอเทอร์ และวัสดุพิมพ์ปากพอลิไวนิลซิลอกเซน (polyvinylsiloxane impression) หรือที่รู้จักกันในชื่อ แอดดิชันซิลิโคน (addition silicone) วัสดุทั้ง 2 กลุ่มเป็นวัสดุพิมพ์ปากอีลาสโตเมอร์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการพิมพ์ปากขั้นสุดท้าย (final impression)^{6,11,16,17} เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีความแม่นยำในการคืนรูปของวัสดุ (elastic recovery) ถ่ายทอดลักษณะพื้นผิวฟันที่กรอแต่งได้ครบถ้วน มีการคงเสถียรภาพเชิงมิติที่ดี เนื่องจากการภายหลังการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันไม่เกิดผลลัพท์ของสารที่ระเหย ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่กระทบกับเสถียรภาพที่เปลี่ยนแปลงของวัสดุพิมพ์ปาก³ ได้มีการพัฒนาวัสดุพิมพ์ปากชนิดยืดหยุ่นขึ้นสำหรับการพิมพ์ปากขั้นสุดท้าย วัสดุกลุ่มนี้ถูกเรียกว่า “พอลิไวนิลซิลอกเซนอีเทอร์” (polyvinylsiloxanether)^{12,18,19} เป็นวัสดุพิมพ์ปากที่มีการ

รวมโครงสร้างเคมีของวัสดุพิมพ์ปากพอลิไวนิลไซลอคเซน และวัสดุพิมพ์ปากพอลิอีเทอร์ ทำให้พอลิไวนิลไซลอคเซนอีเทอร์มีความแข็งแรงต้านต่อการฉีกขาด (high tear strength) มีความยืดหยุ่นสูง ดึงวัสดุพิมพ์ปากออกจากส่วนคอดได้ง่าย มีเสถียรภาพเชิงมิติที่แม่นยำ (dimension accuracy) ไม่เกิดผลลัพธ์ของปฏิกิริยา สามารถเทแบบปูนได้ทันที ด้านทานต่อการเปลี่ยนรูปร่างอย่างถาวร (deformation) มีการไหลแผ่ดีมาก (excellent flow) และมีคุณสมบัติไฮโดรฟิลิกในขณะที่วัสดุพิมพ์ปากยังไม่ก่อตัวจากปฏิกิริยาพอลิเมอร์เซชัน รวมถึงภายหลังการก่อตัวจากปฏิกิริยาพอลิเมอร์เซชันซึ่งทำให้วัสดุมีการไหลแผ่ที่ดีโดยเฉพาะในบริเวณที่มีความชื้น เนื่องจากมีค่ามุมสัมผัสที่กระทำกับพื้นผิว (contact angle) น้อยกว่า 10 องศาเซลเซียส ในเวลา 1 วินาที มีระยะเวลาการทำงานในช่องปากที่เพียงพอ มีระยะเวลาก่อตัวในช่องปากสั้น ไม่มีกลิ่น ไม่มีรสชาติดิบเหมือนพอลิอีเทอร์ เอาชิ้นงานออกจากแบบปูนง่าย มีการศึกษาไม่มากที่กล่าวถึงวัสดุกลุ่มนี้ จากการศึกษาเสถียรภาพเชิงมิติของวัสดุพอลิไวนิลไซลอคเซนอีเทอร์ชนิดหนึ่งพบว่า เมื่อพิมพ์แบบจากแบบพิมพ์หลักและนำมาเทปูนเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของขนาดจากระยะอ้างอิงบนแม่แบบหลักในแต่ละด้านพบว่า ขนาดของแบบปูนในบางด้านมีระยะที่แตกต่างกับแม่แบบหลักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าวัสดุพิมพ์ปากพอลิไวนิลไซลอคเซนอีเทอร์นี้มีเสถียรภาพแม่นยำมากที่สุดเมื่อเทรอยพิมพ์ทันทีเมื่อดึงวัสดุออกจากแม่แบบหลักที่ใช้พิมพ์และมีการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเชิงมิติเพิ่มขึ้นภายหลังเก็บแบบพิมพ์ 1 วัน โดยการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพที่วัดจากแบบปูนของวัสดุชนิดนี้มีค่าใกล้เคียงกับวัสดุแอตติชันซิลิโคน^{12,15} แม้ว่าวัสดุแอตติชันซิลิโคนและพอลิอีเทอร์เป็นวัสดุที่ได้รับการยอมรับจากหลายงานวิจัยว่า มีเสถียรภาพที่ดี แต่พบว่าในสถานะที่มีความชื้นความสามารถของวัสดุในการลอกเลียนรายละเอียดยังคงให้ผลไม่แน่นอน^{11,15} โดยมีผิวขรุขระและเกิดฟองอากาศเล็ก ๆ บริเวณรอยพิมพ์¹¹ ดังนั้น จุดประสงค์ของการศึกษาของงานวิจัยนี้คือ เพื่อประเมินการคงเสถียรภาพเชิงมิติและการลอกเลียนรายละเอียดของวัสดุพิมพ์ปากพอลิไ

นิลไซลอคเซนอีเทอร์ เมื่อถูกพิมพ์ในสภาวะแห้ง ชื้น และเปียก โดยเปรียบเทียบกับวัสดุพิมพ์ปาก แอตติชันซิลิโคน และพอลิอีเทอร์ในสภาวะการพิมพ์เดียวกัน

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุพิมพ์ปาก ทั้ง 3 ชนิด จำนวน 270 รอยพิมพ์ ประกอบด้วยวัสดุพิมพ์ปากพอลิไวนิลไซลอคเซนอีเทอร์ ยี่ห้อไเดนเทียม®ไลท์ (Identium®light, Kettenbach, Germany) วัสดุพิมพ์ปากแอตติชันซิลิโคนยี่ห้อพานาซิล®คอนแทคพลัส (Panasil®contact plus X-light, Kettenbach, Germany) และวัสดุพิมพ์ปากยี่ห้ออิมเพกุ่ม™ (Impregum™Penta™ Soft, 3M ESPE, Germany) โดยวัสดุพิมพ์ปากทั้งสามมีคุณสมบัติตามตารางที่ 1 วัสดุพิมพ์ปากชนิดละ 90 ชิ้น พิมพ์ในสภาวะแห้ง 30 ชิ้น สภาวะชื้น 30 ชิ้น และเปียก 30 ชิ้น โดยพิมพ์บนแม่แบบโลหะ (apparatus for detail reproduction) ตามมาตรฐานการประเมินคุณสมบัติของวัสดุพิมพ์ปากตามที่ทันตแพทย์สมาคมอเมริกากำหนด ซึ่งประกอบด้วยเส้นที่มีขนาด 0.020 มิลลิเมตร จำนวน 3 เส้น โดยมีเส้นแนวตั้งตัดผ่านเส้นแนวราบเพื่อเป็นจุดเริ่มต้นและสิ้นสุดของการวัด ทำความสะอาดพื้นผิวก่อนการพิมพ์ด้วยแอลกอฮอล์ และเป่าลมพื้นผิวให้แห้งก่อนการฉีดวัสดุบนแบบพิมพ์ทุกครั้ง ในการพิมพ์สภาวะแห้ง และก่อนการเตรียมพื้นผิวในสภาวะการพิมพ์ชื้นและเปียก ผสมส่วนเบส (base) และคะตะลิสต์ (catalyst) ของวัสดุพิมพ์ปากพอลิอีเทอร์ด้วยเครื่องเพ็นตะมิกซ์ (pentamix, 3M ESPE, Germany) และวัสดุพิมพ์ปากพานาซิลคอนแทคพลัส และไเดนเทียม®ไลท์ ด้วยเครื่องออโตมิกซ์ (automix, Kettenbach, Germany) เพื่อลดการเกิดฟองอากาศที่อาจเกิดขึ้น การพิมพ์ทำโดยให้ส่วนปลายหัวฉีดกดลงบนแม่แบบโลหะ ฉีดวัสดุพิมพ์ในทิศทางเดียวกัน ต่อเนื่องจนสิ้นสุดการพิมพ์ ฉีดวัสดุให้มีความหนา 3 มิลลิเมตรจนพอดีกับขอบบนของแท่นพิมพ์ นำแท่นโลหะหนัก 300 กรัมกดทับบนผิวของวัสดุพิมพ์ปาก รอวัสดุเซตตัวตามที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด นำวัสดุพิมพ์ปากออกจากแบบมาตรฐาน การพิมพ์จะทำในห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส

และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่างร้อยละ 45 - 50 โดยการพิมพ์ในสภาวะแห้งผิวโมเดลแม่แบบสำหรับพิมพ์จะแห้งจากการเป่าลม การพิมพ์ในสภาวะชื้น (รูปที่ 1) ผิวโมเดลแม่แบบสำหรับพิมพ์จะมีคราบน้ำตกค้างร่วมกับละอองน้ำขนาดเล็กมากบนพื้นผิว จากการเช็ดผิวต้นแบบพิมพ์ด้วยกระดาษเปียก (babywipe) ถูไปกลับ 2 ครั้ง และการพิมพ์ภายใต้สภาวะเปียก (รูปที่ 2) จะทำการพิมพ์ขณะที่โมเดลแม่แบบพิมพ์อยู่ใต้น้ำ โดยมีระดับน้ำเหนือส่วนขอบบนของแม่แบบพิมพ์ 0.5 เซนติเมตร ฉีดวัสดุพิมพ์ปากได้น้ำโดยมีลักษณะการพิมพ์เหมือนการพิมพ์ในสภาวะแห้งและชื้น เมื่อวัสดุก่อตัว นำวัสดุพิมพ์ปากออกจากแม่แบบ เป่าน้ำและลมให้แห้ง และติดหมายเลขด้านหลังและทำการสุมรอยพิมพ์จากสภาวะแห้ง และชื้นของวัสดุพิมพ์ปากทั้งสามชนิดเพื่อเปรียบเทียบเสถียรภาพเชิงมิติที่เปลี่ยนแปลงไปโดยประเมินการเปลี่ยนแปลงจากความยาวของเส้นแนวราบบนรอยพิมพ์เมื่อพิมพ์แบบไปแล้ว 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับความยาวบนเส้นเดียวกันจากแม่แบบต้น โดยการวัดระยะด้วยเครื่องวัดมิติวัสดุ (measurement microscope, Nikon measurescope MM-11, Tokyo, Japan) ความละเอียด 0.001 มิลลิเมตร หรือ 1 ไมครอน การหาความยาวของเส้นบนรอยพิมพ์จะหาจากค่าเฉลี่ยของเส้นที่ปรากฏให้เห็นความต่อเนื่องเท่านั้น หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของเสถียรภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของรอยพิมพ์ทั้ง 3 ชนิดที่พิมพ์แบบจากแม่แบบต้นในสภาวะแห้งและชื้นด้วยสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (two-way analysis of variance; ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และหาร้อยละการเปลี่ยนแปลงของเสถียรภาพ (dimensional change) (%) = $(A-B)/A \times 100$ เมื่อ A คือ ความยาวที่วัดจากแม่แบบต้น และ B คือ ความยาวที่วัดจากรอยพิมพ์ และศึกษาปัจจัยของเวลาโดยการเปรียบเทียบความยาวของเส้นแนวราบบนรอยพิมพ์ที่เวลา 1 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมงด้วยสถิติการทดสอบทีแบบจับคู่ (Pair t-test) และศึกษาความสามารถของการลอกรายละเอียดของวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 ชนิดจากรอยพิมพ์ที่ถูกพิมพ์ในสภาวะแห้ง ชื้น และ

เปียก โดยประเมินรอยพิมพ์ทันที และประเมินผลจาก 2 วิธี คือ 1) ใช้มาตรฐานตามข้อตกลงของทันตแพทย์สมาคมอเมริกาซึ่งมีลักษณะเดียวกับมาตรฐานการรับรองคุณภาพ คือ เห็นเส้นแนวราบที่มีขนาดตามมาตรฐานกำหนด คือ การปรากฏของเส้นแนวราบที่ยาวต่อเนื่องตลอดความยาวอย่างน้อยสองในสามเส้น แต่จากการพิมพ์ในการทดลองแนวนอนในสภาวะการพิมพ์ที่มีความชื้นและเปียกพบลักษณะความขรุขระ (roughness) เช่น การเกิดพื้นผิวขรุขระไม่เรียบเป็นผิวคลื่นจากคราบน้ำ หรือหลุมฟองอากาศขนาดเล็กเกิดขึ้นบ้างบนรอยพิมพ์ในส่วนที่ไม่ใช่สามเส้นหลัก (รูปที่ 3) ซึ่งหากเกิดขึ้นในสภาวะการทำงานในตำแหน่งที่สำคัญของฟันหลักมักส่งผลกระทบต่อรอยพิมพ์ที่ไม่อาจยอมรับได้ ดังนั้น การประเมินความสามารถของวัสดุในการลอกรายละเอียดจึงใช้เกณฑ์เพิ่มเติมคือการเปรียบเทียบปริมาณข้อบกพร่องหรือตำหนิ (defect) ที่เกิดขึ้นบนรอยพิมพ์ ได้แก่ ลักษณะผิวที่ขรุขระ เป็นรอยไม่เรียบบนรอยพิมพ์ เกิดหลุมเล็ก ๆ หรือฟองอากาศที่ทำให้รอยพิมพ์ไม่สมบูรณ์ ประเมินโดยนำแผ่นใสที่ประกอบด้วยช่องขนาด 1 มิลลิเมตร จำนวน 400 ช่องตีเป็นตาราง (รูปที่ 4) ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ของรอยพิมพ์ทั้งหมด นำมาทาบบนรอยพิมพ์เพื่อนับจำนวนข้อบกพร่องหรือตำหนิที่เกิดขึ้นบนชิ้นรอยพิมพ์ทั้งหมดภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายวัตถุ 2.5 เท่า (polarized microscope, E-400 pol, Japan) เนื่องจากรอยพิมพ์มีรูปร่างเป็นวงกลม ดังนั้น กรณีที่ตำหนิอยู่บนพื้นที่ไม่เต็มช่องของตารางบริเวณใกล้ขอบวงกลมจะพิจารณาคิดเป็นครึ่งช่องหรือ 0.5 ตารางมิลลิเมตร เพื่อให้เป็นค่ากลางมากที่สุด และหาค่าเฉลี่ยของพื้นที่ตำหนิบนรอยพิมพ์และคำนวณเป็นร้อยละของตำหนิที่เกิดขึ้นบนรอยพิมพ์โดยเปรียบเทียบกับพื้นที่ของวงกลมของรอยพิมพ์ที่เกิดตำหนิ (ตารางที่ 4) การนับตำหนิบนรอยพิมพ์ทำโดยผู้วัดที่ไม่ทราบวัสดุชนิดของวัสดุพิมพ์ปาก และไม่ใช้ผู้พิมพ์วัสดุพิมพ์ปากและไม่ใช้ผู้วัดเสถียรภาพเชิงมิติที่เปลี่ยนแปลงของรอยพิมพ์ (triple blind technique)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการทดสอบ

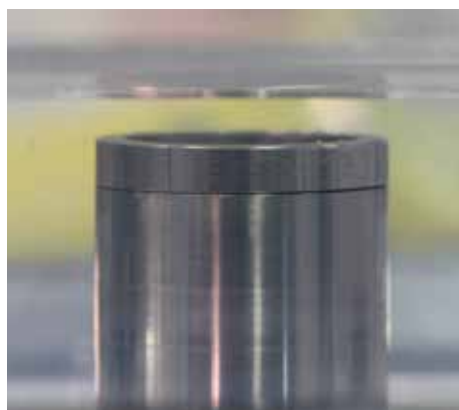
Table 1 Properties of three impression materials used in this study

Product	Manufacturer	Chemical Type	Lot	Working time 23 °c (mins)	Intraoral setting time 35 °c (mins)	ISO 4823 (Type)	Color	Consistency (mm.)
Identium [®] Light	Kettenbach GmbH	Vinylsiloxanether (VSXE)	140121	2.00	2.30	3	Violet	42
Panasil [®] contact plus X-light	Kettenbach GmbH	Vinylpolysiloxane (VPS)	140951	2.00	2.00	3	Violet	42
Impregum [™] Penta [™] Soft	3M ESPE	Polyether (PE)	31792	2.45	3.30	3	Violet	36



รูปที่ 1 การพิมพ์ในสถานะชื้นซึ่งมีคราบน้ำและละอองน้ำขนาดเล็กมากบริเวณพื้นผิวแม่แบบ

Figure 1 Moist impression with water stain and spray on mold's surface

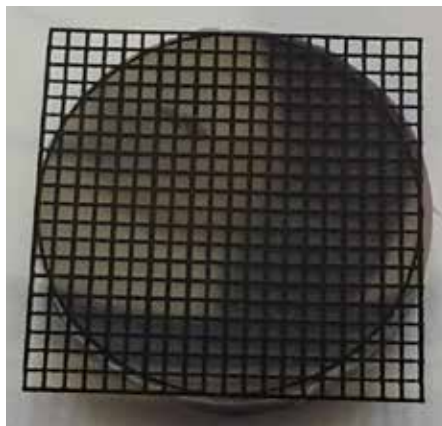


รูปที่ 2 การพิมพ์ในสถานะเปียกที่มีส่วนขอบบนของแม่แบบอยู่ใต้ระดับน้ำ 0.5 เซนติเมตร

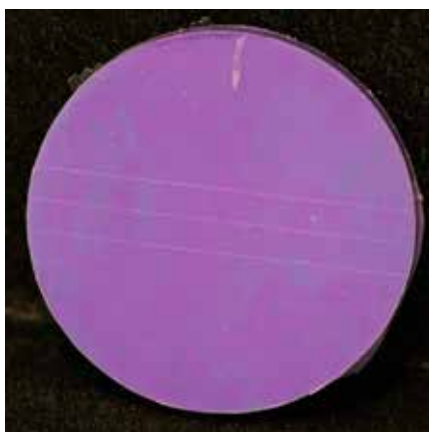
Figure 2 Wet impression with 0.5 centimeters underwater edge



รูปที่ 3 รอยพิมพ์ที่มีตำหนิ เช่น ผิวไม่เรียบ มีหลุม ฟองอากาศ หรือคราบน้ำที่ทำให้ขาดความชัดเจนของเส้น
Figure 3 Impression defects affecting line clarity, i.e. rough surface, void or water stain



รูปที่ 4 ตารางแผ่นใสเพื่อใช้นับจำนวนข้อบกพร่องหรือตำหนิที่เกิดขึ้น
Figure 4 Grid for counting defects



รูปที่ 5 รอยพิมพ์ที่ปรากฏของเส้นแนวราบที่ต่อเนื่องชัดเจนและไม่พบตำหนิหรือข้อบกพร่องบนรอยพิมพ์
Figure 5 Clear and continuous impression of lines with no defect on surface

จากการวัดเสถียรภาพเชิงมิติจากความยาวของเส้นบนรอยพิมพ์พบว่า รอยพิมพ์ที่พิมพ์ในสภาวะเปียกนั้นไม่สามารถอ่านค่าความยาวของเส้นอ้างอิงได้อย่างชัดเจนภายใต้เครื่องวัดมิติวัสดุ ดังนั้น การวัดเสถียรภาพเชิงมิติของรอยพิมพ์ จึงเป็นการสุ่มวัสดุพิมพ์ปากแต่ละชนิดที่พิมพ์ในสภาวะแห้ง 30 ชิ้นและสภาวะชื้น 30 ชิ้นมาศึกษา การพิมพ์ในสภาวะเปียกจะถูกนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติการลอกเลียนรายละเอียดของวัสดุพิมพ์ปากเพื่อเปรียบเทียบกับรอยพิมพ์ในสภาวะแห้งและชื้น

ผลการวิเคราะห์ด้านเสถียรภาพเชิงมิติ

จากการวัดความยาวของเส้นบนรอยพิมพ์เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงกับความยาวของเส้นบนโลหะของแม่แบบพิมพ์ ค่าการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเชิงมิติ หรือค่าเดลต้า (ΔL) ของวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 ชนิดหาได้จาก

$$\Delta L = |L_1 - L_2|$$

L_1 = ระยะทางบนเส้นแนวราบระหว่างจุดเริ่มต้นถึงจุดสิ้นสุดบนแม่แบบพิมพ์

L_2 = ระยะทางบนเส้นแนวราบระหว่างจุดเริ่มต้นถึงจุดสิ้นสุดบนรอยพิมพ์

ใช้สถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทางในการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงของเส้นความยาวบนรอยพิมพ์จากโลหะต้นแบบของรอยพิมพ์ (ค่าเดลต้า) ในสภาวะแห้งและชื้นของวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 ชนิด และใช้การวิเคราะห์ด้วยสถิติเทมเฮน (Tamhane's T2) โดยเมื่อวิเคราะห์รอยพิมพ์ที่ 1 ชั่วโมงภายหลังการพิมพ์ (ตารางที่ 2) พบว่า ผลของชนิด

ของวัสดุพิมพ์ปากต่อค่าเฉลี่ยของค่าเดลต้าและผลของสภาวะในการพิมพ์ต่อค่าเฉลี่ยของค่าเดลต้ามีค่าระดับนัยสำคัญมากกว่า 0.05 แสดงว่า เมื่อศึกษาการพิมพ์ที่ 1 ชั่วโมง พบว่า ชนิดของวัสดุพิมพ์ปาก และสภาวะการพิมพ์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเสถียรภาพเชิงมิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่า วัสดุพิมพ์ปากและสภาวะการพิมพ์มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คิดเป็นร้อยละ 13.3 แต่เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของรอยพิมพ์ภายหลังการพิมพ์ 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) พบว่า ผลของชนิดของวัสดุพิมพ์ปากต่อค่าเฉลี่ยของเดลต้าให้ค่าระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) แสดงว่า ชนิดของวัสดุพิมพ์ปากมีผลต่อค่าการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเชิงมิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบความแตกต่างกันในวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 กลุ่ม โดยวัสดุพิมพ์ปากอิมพิกมเมื่อพิมพ์ในสภาวะชื้นให้ค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพจากต้นแบบมากที่สุดเมื่อวัดรอยพิมพ์ที่ 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 3) แต่จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทางในเรื่องสภาวะการพิมพ์พบว่า การวัดผลที่ 1 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมงการพิมพ์ในสภาวะแห้งและชื้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเสถียรภาพเชิงมิติอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน และพบว่า วัสดุพิมพ์ปากและสภาวะการพิมพ์มีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 คิดเป็นร้อยละ 8.5 และเมื่อใช้สถิติการทดสอบผลต่างค่าเฉลี่ยประชากรแบบจับคู่ พบว่า ความยาวของเส้นที่ปรากฏบนรอยพิมพ์เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง มีความแตกต่างจากความยาวเมื่อวัดที่ 1 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกชนิดของรอยพิมพ์ ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงว่า เวลาที่ผ่านไป 24 ชั่วโมงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพทางมิติของวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 ชนิด

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความแปรปรวนสองทาง (ปัจจัยของตัวแปรต้นที่มีผลต่อตัวแปรอื่นและตัวแปรตาม)

Table 2 Two-way ANOVA (Test of Between-Subjects Effects)

Test of Between-Subjects Effects						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.	Partial Eta Squared
1 Hour						
Impression	0.001	2	0	2.787	0.064	0.031
Condition	1.100	1	1.1	0.306	0.581	0.002
Impression*condition	0.003	2	0.002	13.37	0.000	0.133
24 Hours						
Impression	0.007	2	0.004	20.58	0.000	0.191
Condition	4.827	1	4.827	0.572	0.450	0.003
Impression*condition	0.003	2	0.001	8.033	0.000	0.085

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเชิงมิติของรอยพิมพ์ทั้ง 3 ชนิด เมื่อรอยพิมพ์ถูกวัดใน 2 ช่วงเวลา

Table 3 Showing dimensional change of three impression at two different time

			Impegum	Panasil	Identium
Material Hours	N	Condition	Mean \pm SD	Mean \pm SD	Mean \pm SD
1 Hour	30	dry	0.0212 \pm 0.0170	0.0188 \pm 0.0065	0.0098 \pm 0.0064
1 Hour	30	moist	0.0108 \pm 0.0079	0.0209 \pm 0.0089	0.0208 \pm 0.0158
24 Hours	30	dry	0.0267 \pm 0.0165	0.0127 \pm 0.0096	0.0286 \pm 0.0094
24 Hours	30	moist	0.0350 \pm 0.0150	0.0184 \pm 0.0152	0.0191 \pm 0.0107

ผลการวิเคราะห์การลอกเลียนรายละเอียดของวัสดุพิมพ์ปากในสภาวะแห้ง ชื้นและเปียก

ในสภาวะแห้งรอยพิมพ์ของวัสดุพิมพ์ปากทั้ง 3 ชนิดมีการปรากฏของเส้นแนวราบที่ต่อเนื่องชัดเจนทุกเส้น ทุกรอยพิมพ์ และไม่พบตำหนิใด ๆ บนรอยพิมพ์ทั้ง 3 ชนิด (รูปที่ 5) ในสภาวะการพิมพ์ที่ชื้น วัสดุพิมพ์ปากโอเด้นเทียม พานาซิล และอิมเพกัม สามารถลอกเลียนรายละเอียดได้โดยปรากฏความต่อเนื่องของเส้นมากกว่าสองในสามเส้นได้ คิดเป็น ร้อยละ 86.7 ร้อยละ 63.3 และ ร้อยละ 100 ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างของพื้นที่ของตำหนิที่เกิดขึ้นในวัสดุทั้งสามชนิดเมื่อทดสอบด้วยสถิติความแปรปรวนทางเดียว เมื่อพิมพ์ในสภาวะเปียก วัสดุพิมพ์ปากโอเด้นเทียม® และพานาซิล® พบการปรากฏ

ของเส้นที่ไม่ต่อเนื่องไม่ผ่านตามข้อกำหนดของมาตรฐานทุกชิ้น แต่พบว่า วัสดุพิมพ์ปากอิมเพกัม™ ผ่านเกณฑ์ตามมาตรฐานกำหนดได้คิดเป็น ร้อยละ 90 อย่างไรก็ตามยังพบตำหนิบนรอยพิมพ์ที่ผ่าน และไม่ผ่านเกณฑ์บนรอยพิมพ์ซึ่งมีขนาดเล็กและใหญ่ครอบคลุมพื้นที่ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยค่าเฉลี่ยของพื้นที่ของตำหนิที่เกิดขึ้นพบในสภาวะการพิมพ์เปียกมากกว่าสภาวะชื้น และพบตำหนิเกิดขึ้นมากที่สุดบนรอยพิมพ์พานาซิลที่พิมพ์ในสภาวะเปียก ไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของพื้นที่ของตำหนิที่เกิดขึ้นบนรอยพิมพ์ทั้งสามกลุ่มในสภาวะเดียวกัน และผลการวิจัยพบว่า พื้นที่ของตำหนิที่เกิดขึ้นพบสูงสุดคิดเป็นร้อยละไม่เกินร้อยละ 1.1 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 จำนวนข้อบกพร่องและตำหนิที่พบบนรอยพิมพ์ เมื่อพิมพ์ในสภาวะชื้นและเปียก

Table 4 Numbers of defects on impressions in moist and wet conditions

Size of defect (mm. ²) per area of impression (A) (A = 314 mm. ²)	Number of defective impressions (pieces)					
	Moist			Wet		
	Identium N = 30	Panasil N = 30	Impregum N = 30	Identium N = 30	Panasil N = 30	Impregum N = 30
13 to 15 mm ²	0	0	0	0	3	0
10 to 12 mm ²	0	0	0	0	3	0
7 to 9 mm ²	0	0	0	3	1	1
4 to 6 mm ²	0	0	0	2	11	17
1 to 3 mm ²	2	4	4	25	12	12
Average area (mm. ²) of defects on one impression $\bar{x} = \frac{\sum X}{N}$	0.13	0.33	0.22	2.6	3.5	3.37
Percentage (%) $\frac{100(\bar{x})}{314}$	0.04	0.11	0.07	0.82	1.11	1.07

$$A = \pi r^2 = (3.14 \times 10^2) = 314 \text{ mm}^2$$

บทวิจารณ์

วัสดุพิมพ์ปากอีลาสโตเมอร์ทุกชนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพขณะก่อตัวได้ด้วยปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงตัวของการเชื่อมต่อกันภายในและระหว่างสายโซ่พอลิเมอไรเซชันเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันและจะมีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นหากมีผลลัพธ์จากปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดองค์ประกอบของสารที่ระเหยได้ เช่น น้ำหรือเอทานอลหรือการขยายตัวจากการดูดน้ำจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม¹ เช่น การขยายตัวของวัสดุพิมพ์ปากพอลิเอเทอร์จากการดูดน้ำจากสภาวะแวดล้อมที่มีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่าร้อยละ 50¹⁶ หรือในอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป¹⁶ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บวัสดุพิมพ์ปากชนิดยืดหยุ่น คือ 19 - 23 องศาเซลเซียส²¹ การเก็บแบบพิมพ์ในสภาวะแวดล้อมเหมาะสม จะสามารถเก็บแบบพิมพ์พอลิเอเทอร์ได้ถึง 14 วัน²² ตามมาตรฐานการประเมินคุณสมบัติของ

วัสดุพิมพ์ปากชนิดยืดหยุ่นได้กำหนดมาตรฐานของวัสดุพิมพ์ปากชนิดยืดหยุ่นที่มีความหนืดน้อย (low viscosity) ว่า เมื่อวัดรอยพิมพ์ที่ 24 ชั่วโมงไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเชิงมิติมากกว่าร้อยละ 0.5^{13,14} จากงานวิจัยนี้พบว่า วัสดุพิมพ์ปากพานาซิลและไอมิเกรอัม ให้ค่าการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพที่ 24 ชั่วโมง ($\Delta L = L_1 - L_2$) ในสภาวะแห้งและชื้นสูงสุด คือ 0.0350, 0.0184 และ 0.0286 หรือคิดเป็นร้อยละได้จาก $\Delta L\% = 100 (L_1 - L_2) / L_1$ ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 0.140, 0.074 และ 0.114 ตามลำดับ ซึ่งให้ค่าน้อยกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนด จากงานวิจัยของ Gonclave และคณะ³ พบว่า แอตติชชันซิลิโคนเกิดการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพน้อยที่สุดคิดเป็นร้อยละ 0.15 และพอลิเอเทอร์ร้อยละ 0.2 ในการทดลองนี้พบว่า วัสดุพิมพ์ปากพานาซิลเป็นวัสดุพิมพ์ปากที่มีเสถียรภาพดีที่สุดหรือมีการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพน้อยที่สุดเมื่อวัดการเปลี่ยนแปลงของความยาวไม่เกิน 1 ชั่วโมง คือ ให้ค่าเฉลี่ย 0.0108 มิลลิเมตรและให้ค่าเสถียรภาพที่แย่สุดเช่นกันเมื่อ

วัดที่ 24 ชั่วโมง คือ ให้ค่าเฉลี่ย 0.0350 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นรอยพิมพ์ที่ถูกพิมพ์ในสภาวะชื้น ซึ่งอาจเป็นผลจากความชื้นที่สะสมภายในตัวรอยพิมพ์ แม้ในการศึกษาผู้ทดสอบจะทำการเป่าลมเบา ๆ เพื่อไล่เอาละอองน้ำที่ติดอยู่ออกก่อนทำการวัดเสถียรภาพของรอยพิมพ์ การพิมพ์ในสภาวะเปียกไม่ได้ถูกนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเชิงมิติ เนื่องจากการอ่านค่าด้วยเครื่องวัดมิติวัสดุ ไม่สามารถวัดค่าได้อย่างแม่นยำ ขาดความชัดเจนของเส้นในรอยพิมพ์ ซึ่งอาจส่งผลต่อค่าเสถียรภาพเชิงมิติที่คลาดเคลื่อนได้ หากทำการศึกษา ในงานวิจัยจึงต้องศึกษาเสถียรภาพเชิงมิติจากการสุมรอยพิมพ์ในสภาวะแห้งและชื้นเท่านั้น และจากสถิติการทดสอบความแปรปรวนแบบสองทาง ไม่พบความแตกต่างของเสถียรภาพบนรอยพิมพ์ในสภาวะแห้งและชื้น เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Walker²³ ที่พบว่า การพิมพ์ปากในสภาวะที่มีความชื้น ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเชิงมิติของวัสดุพิมพ์ปากของพอลิอีเทอร์และพอลิไวนิลไซลอคเซน จากการเปรียบเทียบระยะความยาวบนรอยพิมพ์ที่ 24 ชั่วโมงและ 1 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่าปัจจัยเรื่องของเวลา มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพเชิงมิติ ซึ่งแม้ว่าการเปลี่ยนแปลงนั้นไม่เกินค่ามาตรฐานกำหนด ซึ่งกำหนดให้วัดที่ 24 ชั่วโมง แต่ในการศึกษาต่อไปควรศึกษาในช่วงเวลาที่มากขึ้นเพื่อหาเวลาที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเกินมาตรฐานกำหนดเพื่อหลีกเลี่ยงสภาวะการทิ้งวัสดุพิมพ์ปากเกินช่วงเวลา จากงานวิจัยการคงเสถียรภาพเชิงมิติของวัสดุพิมพ์ปากพอลิไวนิลไซลอคเซนอีเทอร์จากการวัดในแบบพิมพ์ปูน¹² พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงใกล้เคียงกับแอตติชชันซิลิโคนเมื่อเก็บรอยพิมพ์ไว้ 1 สัปดาห์ และมีการเปลี่ยนแปลงไม่ต่างจากวัสดุพิมพ์ปากพอลิอีเทอร์เมื่อเก็บไว้ 2 สัปดาห์ และวัสดุจะมีความแม่นยำที่สุดเมื่อเทแบบทันที^{12,19} แม้ในงานวิจัยนี้จะพบความแตกต่างของเสถียรภาพเชิงมิติที่เปลี่ยนแปลงในวัสดุทั้ง 3 ชนิดเมื่อเก็บรอยพิมพ์ 24 ชั่วโมง แต่ขนาดของการเปลี่ยนแปลงเป็นค่าที่ยอมรับได้ในคลินิกคือ มีช่องว่างบริเวณขอบของครอบฟัน (marginal gap) น้อยกว่า 100 - 150 ไมครอน^{24,25} แต่ในงานวิจัยพบว่า การพิมพ์ในชั่วโมงแรกให้ค่าเสถียรภาพ

ที่ดีกว่าเมื่อ 24 ชั่วโมง เช่นเดียวกับงานวิจัยก่อน^{12,19} คุณสมบัติเรื่องความสามารถของวัสดุพิมพ์ปากในการลอกเลียนรายละเอียดของฟันที่ทันตแพทย์กรอแต่งก็เป็นคุณสมบัติที่มีความสำคัญที่ทำให้ครอบฟันมีความแนบสนิท เนื่องจากวัสดุพิมพ์ปากควรมีความสามารถในการเก็บรายละเอียดของเส้นสิ้นสุด (finishing line) บนตัวฟันหลักได้ ซึ่งเป็นตำแหน่งของการวางขอบของครอบฟันให้มีความแนบสนิทกับฟันหลัก และตามมาตรฐานของทันตแพทย์สมาคมอเมริกา¹³ และตามมาตรฐานข้อกำหนดวัสดุพิมพ์ปาก¹⁴ ได้กำหนดว่า มาตรฐานของวัสดุพิมพ์ปากจะต้องสามารถลอกเลียนรายละเอียดได้อย่างน้อย 25 ไมครอน โดยวัสดุพิมพ์ปากชนิดความหนืดน้อยและปานกลาง ควรมีความสามารถในการลอกเลียนรายละเอียดของพื้นผิวที่มีความกว้างของเส้นที่มีขนาด 0.020 มิลลิเมตรได้ ซึ่งเป็นขนาดของเส้นที่อยู่บนแบบพิมพ์ต้นแบบ และหากปรากฏให้เห็นความต่อเนื่องของเส้นสองในสามเส้นถือว่าวัสดุสามารถลอกเลียนรายละเอียดได้ผ่านตามเกณฑ์ในทางทฤษฎี²⁶ การพิมพ์ปากครั้งสุดท้ายเพื่อให้ได้รายละเอียดของเส้นสิ้นสุดที่ชัดเจน วัสดุพิมพ์ปากควรถูกพิมพ์ในสภาวะแห้งปราศจากความชื้น ปัจจุบันผู้ผลิตวัสดุพิมพ์ปากจะมีการเติมสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (nonionic surfactant) เช่น โนนิลฟีนอกซีพอลิเอทานอล (nonylphenoxy polyethoxyethanol) ลงไปในวัสดุพิมพ์ปากหลายชนิด^{26,27} เพื่อลดมุมสัมผัสที่กระทำต่อผิว (contact angle) ปรับปรุงความสามารถของวัสดุให้มีความสามารถของของเหลวในการรักษาหน้าสัมผัสกับพื้นผิวที่มีน้ำ (wetting) ได้ดี ซึ่งเรียกว่า ไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) เพื่อให้วัสดุพิมพ์ปากสามารถเข้าใกล้ในการสัมผัสกับฟันและเนื้อเยื่อมากที่สุด เพื่อประโยชน์ในการลอกเลียนรายละเอียดของพื้นผิวได้ดีขึ้นและเกิดข้อบกพร่อง (defect) หรือตำหนิบนรอยพิมพ์น้อยที่สุดบนรอยพิมพ์วัสดุพิมพ์ปากตามอุดมคติควรมีคุณสมบัติไฮโดรฟิลิกทั้งก่อนและหลังการก่อตัว คุณสมบัติไฮโดรฟิลิกนั้นมีอิทธิพลกับวัสดุพิมพ์ปากได้ 2 สภาวะ คือ สภาวะที่วัสดุพิมพ์ปากยังไม่เกิดการพอลิเมอไรเซชัน ซึ่งจะนำพาให้วัสดุพิมพ์ปากสามารถเข้าไปใกล้ผิวฟันและเนื้อเยื่อได้

และสภาวะที่วัสดุพิมพ์ปากมีการก่อตัวแล้วซึ่งทำให้การเทแบบจำลองปูนทำได้โดยปราศจากฟองอากาศในเนื้อปูน ซึ่งทำให้การครอบฟันในห้องปฏิบัติการมีประสิทธิภาพและแม่นยำ²⁸ การประเมินลักษณะไฮโดรฟิลิกสามารถจะศึกษาจากตำหนิที่เกิดขึ้นบนรอยพิมพ์ และจากแบบปูนที่ถูกพิมพ์ หากค่ามุมสัมผัสซึ่งเป็นมุมที่เกิดจากผิวสัมผัสกับรอยพิมพ์น้อยกว่า 90 องศาเซลเซียส วัสดุจะแสดงความเป็นไฮโดรฟิลิก²⁹ โดยพบว่า วัสดุพิมพ์ปากพอลิอีเทอร์แสดงค่ามุมสัมผัสน้อยที่สุดคือ 35.2 องศาเซลเซียส รองลงมาคือพอลิไวนิลไซลอคซิน ซึ่งได้ 60.8³⁰ คุณสมบัติไฮโดรฟิลิกเป็นคุณสมบัติที่มีความสำคัญระหว่างกระบวนการพิมพ์เนื่องจากช่วยให้วัสดุไหลแผ่และเข้าไปใกล้แนบติดกับส่วนของตัวฟันและเหงือกซึ่งอาจมีบางส่วนมีการปนเปื้อนจากความชื้น เช่น เลือด น้ำลาย และน้ำ เมื่อวัสดุพิมพ์ปากมีความเป็นไฮโดรฟิลิก น้ำหรือความชื้นจะเป็นตัวดึงให้วัสดุพิมพ์ปากมายึดติดกับพื้นผิวได้ หากวัสดุพิมพ์ปากมีลักษณะไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) หรือสภาวะไม่ชอบน้ำ วัสดุจะสร้างหยดน้ำเล็ก ๆ ซึ่งสุดท้ายจะทำให้เกิดฟองอากาศบนรอยพิมพ์และเกิดช่องว่างหรือรูบนแบบปูนที่เทจากรอยพิมพ์ ซึ่งหากพบตำหนิจากช่องว่างบริเวณขอบจุดสิ้นสุดของครอบก็ส่งผลต่อความแนบสนิทของครอบ¹⁵ จากการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติไฮโดรฟิลิกที่เกิดขึ้นก่อนและหลังก่อตัวของวัสดุพิมพ์ปากพอลิอีเทอร์เปรียบเทียบกับพอลิไวนิลไซลอคเซนหลายยี่ห้อพบว่า รอยพิมพ์และแบบปูนที่เทแบบจากวัสดุพิมพ์ปากพอลิอีเทอร์มีการเกิดรูพรุนน้อยที่สุดและพบว่าพอลิอีเทอร์สามารถให้รายละเอียดของรอยพิมพ์ได้ดีกว่าไวนิลพอลิไซลอคเซนในสภาวะที่ชื้น²⁹ การศึกษาของ Takahashi และ Finger¹⁵ พบว่าวัสดุพิมพ์ปากแอตติชันซิลิโคน และพอลิอีเทอร์นั้นสามารถพิมพ์ได้ดีในสภาวะที่มีความชื้นปานกลางมีการศึกษา¹⁰ แนะนำว่าควรใช้พอลิอีเทอร์เมื่อต้องพิมพ์ในสภาวะที่ควบคุมความชื้นได้ยาก อย่างไรก็ตาม ความชื้นที่มากเกินไปอาจเป็นปัญหาต่อการลอกเลียนรายละเอียดได้ จากงานวิจัยนี้พบว่า

เมื่อนำเกณฑ์การปรากฏของเส้นที่ต่อเนื่องมากกว่าสองในสามเส้น พบว่าวัสดุพิมพ์ปากทั้งสามชนิดสามารถให้รอยพิมพ์ที่ชัดเจนทุกชิ้นงานเมื่อพิมพ์ในสภาวะแห้ง แต่ในสภาวะชื้นมีเพียงรอยพิมพ์ของวัสดุอิมพิกัมที่พบชิ้นงานทุกชิ้นผ่านเกณฑ์และในการพิมพ์สภาวะเปียกอิมพิกัมเป็นวัสดุชนิดเดียวที่ผ่านตามเกณฑ์ (จำนวนร้อยละ 90) แม้จะพบว่ารอยพิมพ์จะมีตำหนิบ้างซึ่งคิดเป็นร้อยละ 1 ของพื้นที่ในสภาวะชื้นวัสดุพิมพ์ปากไอน์เทียมให้การลอกเลียนรายละเอียดได้ดีกว่าพานาซิลเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนร้อยละของการปรากฏเส้นต่อเนื่องมากกว่าสองในสามและเกิดร้อยละของการเกิดตำหนิบนรอยพิมพ์ แต่การพิมพ์ในสภาวะเปียกวัสดุทั้งสองชนิดไม่สามารถให้รอยพิมพ์ที่ผ่านเกณฑ์ แม้ว่าจะมีร้อยละการเกิดตำหนิไม่แตกต่างกัน แต่การไม่ขึ้นตัวอย่างใดผ่านเกณฑ์ย่อมแสดงให้เห็นถึงความสามารถของวัสดุในการลอกเลียนรายละเอียด อย่างไรก็ตามยังมีอีกหลายปัจจัยที่มีผลต่อการลอกเลียนรายละเอียดของวัสดุ เช่น ความชื้นความหนืดของวัสดุ การผสมวัสดุ (handling properties) ทฤษฎีการไหลของวัสดุ (rheological theory) และความลึกในการผ่านได้ของวัสดุที่เป็นของเหลวระหว่างกระบวนการพอลิเมอไรเซชันซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป ดังนั้นในงานวิจัยในอนาคตอาจต้องทำการศึกษาความสามารถของวัสดุพิมพ์ปากพอลิไวนิลไซลอคเซนอีเทอร์ในคุณสมบัติอื่น ๆ ทางอุดมคติหรือมีข้อกำหนดตามมาตรฐานการรับรองคุณภาพโดยเปรียบเทียบกับวัสดุพิมพ์ปากในกลุ่มที่เป็นที่นิยมและเป็นที่ยอมรับในคลินิกและอาจต้องศึกษาวัสดุพิมพ์ปากพอลิไวนิลไซลอคเซนอีเทอร์ในยี่ห้ออื่นที่เริ่มเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทย นอกจากนี้อาจต้องพัฒนาการทดลองให้เลียนแบบกับลักษณะช่องปากหรือการใช้งานของวัสดุในทางคลินิกมากขึ้น เช่น การทดสอบการลอกเลียนรายละเอียดกับผิวเนื้อฟัน หรือการใช้สารซึ่งมีคุณสมบัติของสารคัดหลั่งของร่างกายซึ่งจำลองสภาพในช่องปากมีความเหมือนจริงมากกว่าการใช้น้ำ³⁰

บทสรุป

เมื่อวัดรอยพิมพ์ที่ 24 ชั่วโมง รอยพิมพ์ของวัสดุพิมพ์ปากทั้งสามชนิดมีการเปลี่ยนแปลงเสถียรภาพของรอยพิมพ์จากโมเดลต้นแบบและให้ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่า มีค่าไม่เกินตามที่มาตรฐานกำหนด (ร้อยละ 0.5) และวัสดุพิมพ์ปากไฮเด้นเทียมไลท์สามารถลอกรายละเอียดได้ดีในสภาวะแห้งแต่ในสภาวะชื้นวัสดุชนิดนี้ยังมีการลอกเลียนรายละเอียดได้ต่ำกว่าอิมพิกัมเฟ้นตะซอพท์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิตที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยและขอขอบพระคุณ ศ.คลินิก พญ. อิศราวัลย์ บุญศิริ ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัยและชี้แนะวัสดุพิมพ์ปากชนิดนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Sakaguchi RL, Powers JM. Craig's restorative dental materials. 13th ed. Philadelphia: Mosby; 2012. p.277-325.
2. Anusavice KJ, Shen C, Rawls R. Phillips' Science of Dental Materials. 12th ed. St. Louise: Elsevier; 2013. p.151-81.
3. Gonçalves FS, Popoff DA, Castro CD, Silva GC, Magalhães CS, Moreira AN. Dimensional stability of elastomeric impression materials: a critical review of the literature. *Eur J Prosthodont Restor Dent* 2011;19:163-6.
4. Shillingburg HT, Hobo S, Whistsett LD, Jacobi R, Brackett SE. Fundamentals of fixed prosthodontics. 3rd ed. Chicago: Quintessence; 1997. p.281-307.
5. Chen SY, Liang WM, Chen FN. Factor affecting the accuracy of elastomeric impression

materials. *J Dent* 2004;32:603-9.

6. Donovan TE, Chee WW. A review of contemporary impression materials and techniques. *Dent Clin North Am.* 2004;48:445-70
7. Thongthammachat S, Moore BK, Barco MT 2nd, Hovijitra S, Brown DT, Andres CJ. Dimensional accuracy of dental casts: influence of tray material, impression material and time. *J Prosthodont* 2002;11:98-108.
8. Kanehira M, Finger WJ, Endo T. Volatilization of components from and water absorption of polyether impressions. *J Dent* 2006;34:134-8.
9. Kotsiomi E, Tziella A, Hatjivasiliou K. Accuracy and stability of impression materials subjected to chemical disinfection-a literature review. *J Oral Rehabil* 2008;35:291-9.
10. Johnson GH, Lepe X, Aw TC. The effect of surface moisture on detail reproduction of elastomeric impressions. *J Prosthet Dent* 2003;90:354-64.
11. Petrie CS, Walker MP, O'mahony AM, Spencer P. Dimensional accuracy and surface detail reproduction of two hydrophilic vinyl polyvinylsiloxane impression materials tested under dry, moist and wet conditions. *J Prosthet Dent* 2003;90:365-72.
12. Nassar U, Oko A, Adeeb S, El-Rich M, Flores-Mir C. An *In vitro* study on the dimensional stability of a vinyl polyether silicone impression material over a prolonged storage period. *J Prosthet Dent* 2013;109:172-8.
13. Anonymous. Revised American Dental Association Specification no. 19 for non-aqueous, elastomeric dental impression

- materials. *J Am Dent Assoc* 1977;94:733-41.
14. International Organization for Standardization. ISO 4823:2000. Dentistry - Elastomeric impression materials. Geneva, Switzerland, 2000.
 15. Takahashi H, Finger WJ. Dentin surface reproduction with hydrophilic and hydrophobic impression materials. *Dent Mater* 1991;7:197-201.
 16. Endo T, Finger WJ. Dimensional accuracy of a new polyether impression material. *Quintessence Int* 2006;37:47-51.
 17. Mandikos MN. Polyvinyl siloxane impression materials: an update on clinical use. *Aust Dent J* 1998;43:428-34.
 18. Burgess JO. Impression material basics. Inside Dentistry. 2005;1(1)[cited 2016 Mar 28] Available from: <http://www.dentalaegis/id/2005/10/impression-material-basics>
 19. Stober T, Johnson GH, Schmitter M. Accuracy of the newly formulated vinyl siloxanether elastomeric impression material. *J Prosthet Dent* 2010;103:228-39.
 20. Christopher JB. Identium® Vinylsiloxanether®. Inside Dentistry. 2011;7(6) [cited 2016 Mar 28] Available from: <http://www.dentalaegis.com/id/2011/06/identium-vinylsiloxanether>
 21. Corso M, Abanomy A, Di Canzio J, Zurakowski D, Morgano SM. The effect of temperature changes on the dimensional stability of polyvinyl siloxane and polyether impression materials. *J Prosthet Dent* 1998;79:626-31.
 22. Franco EB, da Cunha LF, Benetti AR. Effect of storage period on the accuracy of elastomeric impressions. *J Appl Oral Sci* 2007;15:195-8.
 23. Walker MP, Petrie CS, Haj-Ali R, Spencer P, Dumas C, Williams K. Moisture effect on polyether and polyvinylsiloxane dimensional accuracy and detail reproduction. *J Prosthodont* 2005;14:158-63.
 24. Pilo R, Cardash HS. *In vivo* retrospective study of cement thickness under crowns. *J Prosthet Dent* 1998;79:621-5.
 25. McLean JW, von Fraunhofer JA. The estimation of cement film thickness by an *in vivo* technique. *Br Dent J*. 1971;131:107-11.
 26. Craig RG, O' Brien WJ, Power JM. Dental materials: properties and manipulation. 6th ed. St. Louise: Mosby; 1995. p.136-177.
 27. Chai JY, Yeung TC. Wettability of nonaqueous elastomeric impression materials. *Int J Prosthodont* 1991;4:555-60.
 28. O' Brien WJ. Dental materials and their selection. 2nd ed. Chicago: Quintessence; 1997. p.40-1.
 29. Michalakis KX, Bakopoulou A, Hirayama H, Garefis DP, Garefis PD. Pre- and post-set hydrophilicity of elastomeric impression materials. *J Prosthodont* 2007;16:238-48.
 30. Tenovuo J. Human saliva: clinical chemistry and microbiology. 1st ed Florida: CRC Press; 1989. p.6-25.

Effect of Herbal Toothpaste Containing *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* on Dental Plaque and Gingivitis

Supranee Benjasupattananan¹, Thera Rojassawasathien¹, Piyawan Jirayusakamol¹, Yanakorn Siriyeum¹, Jenjira Thechathaweewan¹, Wanlada Koheng¹ and Chayanan Sirawuttipong¹

¹Department of Periodontology, Faculty of Dental Medicine, Rangsit University, Pathumthani, Thailand

Correspondence to:

Supranee Benjasupattananan. Department of Periodontology, Faculty of Dental Medicine, Rangsit University, 52/347, Munag-Ake, Phaholyothin Road Lak-Hok, Pathumthani, 12000 Thailand Tel: 02-7916000 ext. 4345, 085-1092515 E-mail: ohdent7@yahoo.com

Abstract

The aim of this randomized controlled clinical study was to compare the efficacy of herbal toothpaste containing *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* with fluoridated toothpaste in the reduction of dental plaque and gingival inflammation. Fifty one healthy participants were randomly allocated to one of two groups, the control group (fluoridated toothpaste) and the test group (herbal toothpaste). The enclosed label toothpastes and new soft bristled toothbrushes were distributed to each participant according to their groups. All participants were instructed to brush their teeth with assigned toothpaste for 2 minutes, 2 times a day for 4 weeks. The plaque index and gingival index were examined and recorded on the first day (baseline), 14th day and 28th day (endpoint). The plaque index and gingival index scores were decreased statistically significant in both groups at the end of the study period ($p < 0.05$). However, these parameters were not statistically significant different between the groups.

Key words: Gingivitis; Herbal toothpaste; Plaque control

Received Date: AUG 31, 2015, Accepted Date: APR 1, 2016

doi: 10.14456/jdat.2016.11

Introduction

Plaque-induced gingivitis is an inflammation of the gingival tissues resulting from dental biofilm located at the gingival margin. If it left untreated with time, the inflammation may progress and eventually involve the entire periodontal attachment apparatus of the affected teeth.¹⁻³ Although, it has been shown that gingivitis is reversible and the progression to be periodontitis is not predictable, the prevention of gingivitis in the population is still the first step toward preventing periodontitis.⁴

The mechanical plaque control is an effective method of controlling supragingival dental biofilm and gingival inflammation. To achieve sufficiently low levels of the dental biofilm, the antimicrobial toothpastes as an adjunct to tooth brushing are being used to improve the efficacy of self-performed mechanical tooth brushing method.⁵ In addition, various herbal toothpastes are being marketed and have been used as adjunctive agents to prevent the gingival inflammation and dental biofilm accumulation.⁶⁻⁸

In Thailand, the local herbal ingredients are used in commercial toothpaste such as *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana*. The microbiologic and experimental studies demonstrated that *Piper betle* extract can inhibit the adherence of dental plaque by reduction of dental pellicle formation on the tooth surface. It also increases hydrophobicity of the bacterial cell membrane resulting in decreased adherence to the acquired pellicle^{9,10} Furthermore, the experimental study of *Piper betle* and

Psidium guajava extract revealed that the biological activities possessed by these extracts collectively contribute to their positive antimicrobial effects on the early plaque bacteria as *S. sanguinis*, *S. mitis* and *Actinomyces sp.*¹¹ According to the clinical trial of the gel form of *Garcinia mangostana*, there was a significant reduction in the periodontal pocket depth in periodontitis patients.¹² Besides, the herbal mouthwash containing pericarp of *Garcinia mangostana* demonstrated the reduction of volatile sulfur compound (VSC) in gingivitis patients.¹³ Anyway, there is unavailable scientific document about the effect of herbal toothpaste containing *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* in plaque control and reduction of gingival inflammation.

The primary purpose of this study was to compare the efficacy of herbal toothpaste containing *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* and fluoridated toothpaste in the plaque control. The secondary purpose was to compare the efficacy of the herbal toothpaste and fluoridated toothpaste in the reduction of gingival inflammation.

Materials and methods

The ethical approval of the study was provided by the Ethical Committee Board of Rangsit University (RSEC 04/2556). Participants' age between 18 - 35 years, non-smoker and in good general health were enrolled in this study. All of the participants were given both verbal and written information of the study and signed a consent form. The participants were selected on the basis of having mild to moderate gingival

inflammation. Thus, the inclusion criteria were defined as a whole mouth pre-brushing plaque index scores¹⁴ > 1.95 and gingival index¹⁵ > 0.95 at the baseline. Participants must have no fixed or removable orthodontic appliance or removable partial denture. They all had at least 20 teeth which no large dental caries. The exclusion criteria included a medical condition with the history of antibiotic therapy or anti-inflammatory medications less than 1 month before the study. The participants had to refrain from any non-emergency dental care including prophylaxis during the study.

Prior to start this clinical trial, a single examiner who had an experience in periodontal investigation performed a pilot examination of periodontal indices used in this study. During the study period, the random allocation of participants was generated and blinded from the examiner. Every one of ten participants was repeated the periodontal examination in each time point. The intra-class correlation coefficient test was calculated for overall. The following indices were recorded from the buccal and lingual aspects of each tooth.

1. The gingival index¹⁴ (Löe and Silness, 1963): score 0 - 3

2. The plaque index¹⁵ (Tureskey modification of the Quigley-Hein index, 1970): score 0 - 5

A randomized controlled clinical trial was performed in parallel group for 28 days home use protocol. Fifty one participants who fulfilled the entry criteria were randomly allocated in 2 groups by simple random sampling method. Each participant used the soft bristled toothbrush (Systema®, the original, Lion Corporation) and

they were also allowed to use dental floss during the study. The assigned toothpastes with enclosed label were distributed to each participant as following:

- Control group: fluoridated toothpaste (containing active ingredients as 1,000 ppm sodium monofluorophosphate 0.76 %, Colgate®, Colgate-Palmolive)

- Test group: herbal toothpaste (containing active ingredients as *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana*, Abhaibhubejhr®)

All of the participants were instructed to brush for 2 minutes twice a day, in the morning and before bedtime. They were demonstrated to squeeze 1 cm (approximate 1.2 g) of toothpaste across the bristle of the toothbrush. During the 28 days of this study, the participants were asked to refrain from using other tooth cleaning procedures or oral hygiene product. Instruction brochure and appointment card with contact number were given to all participants in case of any doubt or if they experienced any adverse effect from the toothpaste

Data Analysis

The indices were recorded for each participant in 3 phases.

1. Baseline: day 0

2. After the initial use of the toothpaste: 14th day

3. End point: 28th day

A whole mouth gingival index and plaque index, a buccal and a lingual score were calculated. The normality of data distribution was assessed with Kolmogorov-Smirnov test and the homogeneity of variance was tested with

Levene's test. The paired *t*-test and the independent sample *t*-test were used for the comparisons within the groups and between groups in all three phases.

Results

Fifty one (29 males and 22 females) of the initial 66 participants completed the 28 days study period. There were fifteen participants drop-out throughout this trial. Three individuals were contacted but declared, they were "too busy" or "didn't have time" to come to the 28th day exam, seven had discomfort using the

herbal toothpaste, one had sinus tract opening in his mouth due to pulpal disease and four discontinued using the toothpaste by themselves. The drop-out subjects were examined and received a prophylaxis, but the pertaining data were not included in the statistical analyses.

Table 1 shows the mean age and gender in the test group (N = 25) and control group (N = 26). The mean age of the control group was 25.27 ± 5.33 and 27.16 ± 7.05 in test group. There was no significant difference between the groups with regard to age ($p = 0.46$) and gender ($p = 0.284$).

Table 1 Gender and means age of the participants in both groups

Groups	Gender		Mean age
	Female (N)	Male (N)	
Test group	12	13	27.16 ± 7.05
Control group	10	16	25.27 ± 5.33

The mean PI of the control group and the test group at baseline, 14th and 28th days were shown in Table 2. The whole mouth PI significantly decreased from baseline toward the

endpoint in both groups ($p < 0.05$). However, there was no significant difference between the groups.

Table 2 Mean of Whole mouth plaque index score and comparisons within and between the groups at baseline, 14th day, and endpoint

PI score			
Whole mouth (Mean \pm SD)	Herbal toothpaste N = 25	Fluoridated toothpaste N = 26	<i>p</i> (***)
Baseline	2.61 ± 0.71	2.74 ± 0.80	0.54
14 th day	$2.17 \pm 0.67^*$	$2.30 \pm 0.65^*$	0.50
<i>p</i> (*)	< 0.001	< 0.001	

Table 2 Mean of Whole mouth plaque index score and comparisons within and between the groups at baseline, 14th day, and endpoint (continue)

PI score			
Whole mouth (Mean ± SD)	Herbal toothpaste N = 25	Fluoridated toothpaste N = 26	p (***)
Endpoint	2.05 ± 0.67**	2.14 ± 0.63**	0.62
p (**)	< 0.001	< 0.001	0.50

Significant $p < 0.05$: * = pair sample t -test at baseline and 14th day, ** = pair sample t -test at baseline and endpoint, *** = independent sample t -test

Table 3 presented means of gingival index score and comparisons between the groups at baseline, 14th and 28th day (endpoint). The gingival index scores significantly decreased in the test

and the control groups, but the comparison between the groups revealed no statistical difference.

Table 3 Means of Gingival index score and comparisons within and between the groups at baseline, 14th day and endpoint

GI score			
Whole mouth (Mean ± SD)	Herbal toothpaste N = 25	Fluoridated toothpaste N = 26	p (***)
Baseline	1.76 ± 0.38	1.81 ± 0.39	0.63
14 th day	1.52 ± 0.25*	1.53 ± 0.23*	0.81
p (*)	< 0.001	< 0.001	
Endpoint	1.46 ± 0.23*	1.44 ± 0.26*	0.87
p (**)	< 0.001	< 0.001	

Significant $p < 0.05$: * = pair sample t -test at baseline and 14th day, ** = pair sample t -test at baseline and endpoint, *** = independent sample t -test

Discussion

Nowadays, the interest in alternative toothpaste based on plant extracts has increased. Previous *in vitro* studies shown the antimicrobial properties of several of herbal extracts.⁹⁻¹³ However, there are limited clinical studies available regarding the efficacy of herbal toothpastes. This randomized controlled clinical trial aimed to compare the efficacy of containing *Piper betle*, *Psidium guajava* and *Garcinia mangostana* with fluoridated toothpaste on reduction of dental plaque and gingival inflammation. The results demonstrated that plaque index and gingival index scores at baseline, 14th day and 28th day (endpoint) were statistically significant decreased in both groups of herbal toothpaste and the conventional fluoridated toothpaste, but the statistical difference between groups was not found. This is in accordance with the previous clinical study by Ozaki *et al.*¹⁶, which assessed the efficacy of herbal toothpaste on the reduction of plaque and gingivitis for 28 days. The herbal toothpaste containing active ingredients as chamomile, Echinacea, sage, myrrh and peppermint oil (Parodontax®) was compared to the positive control group usage the fluoridated toothpaste with tricosan.¹⁶ They reported a significant reduction in plaque index and gingivitis in both groups, but there was no statistically significant difference between the groups. This is in agreement with the studies by Saxer *et al.*¹⁷, Mullaly *et al.*¹⁸ that the plaque index and gingival index were significantly reduced in the herbal-based toothpaste (Parodontax®), as well

as in the conventional toothpaste group, but there were no statistically significant difference was found between the groups. Pannuti *et al.*¹⁹ performed a 21-day clinical study to evaluate the effect of herbal toothpaste (Parodontax®) and the standard toothpaste. Although, the result showed no significant reduction in plaque index within groups, but the herbal toothpaste product provided a significant reduction in gingivitis. Another herbal toothpaste study by George *et al.*²⁰, presented that the herbal toothpaste containing eucalyptus and lemon extracts (Colgate® herbal) to be as effective as the non-herbal toothpaste in the reduction of gingivitis. Jayashankar *et al.*²¹ compared the efficacy between the mixture of Indian herbal toothpaste (Sudantha®) and placebo in terms of reduction on plaque index, bleeding on probing and probing depth. The result demonstrated that the evaluated parameters were decreased significantly within herbal toothpaste group at 4, 8 and 12 weeks when compared to baseline, but the placebo group did not show any statistically significant improvement in all parameters.

Various clinical trials demonstrated the comparable effect of herbal toothpaste to conventional fluoridated toothpaste as mentioned above. The active ingredients in herbal toothpaste are claimed as anti-inflammatory effects, while the major property of fluoridated toothpaste is to prevent dental caries. As the reason of standard oral care, the control group in this study was allocated to use the fluoridated toothpaste. At the end of this study, the plaque index and gingival index score were decreased statistically

significant within both groups. The reason might be the benefit of mechanical plaque control combined with toothpaste. Thus the reduction of gingival inflammation was the consequence from the mechanical plaque control resulting in reduction of dental plaque.

In this study, seven participants had some discomfort after brushing with the assigned herbal toothpaste. They were advised to disuse the product at once and the oral examination were performed by the investigator. The oral sign and symptom were recorded including mucosal redness, dry mouth and alteration of taste sensation. After cessation of toothpaste, the unpleasant effects disappeared. These effects might be the allergic effects from the toothpaste ingredients. The review study by Zirwas and Otto²² demonstrated that the most common allergen was the flavoring agents, especially cinnamon, spearmint, peppermint carvone and anethole. The fifth most common allergen is the parabens which be used as preservatives in many over the counter products. The herbal toothpaste used in this study contains methylparaben and propylparaben, which might cause the allergic reactions. While, the fluoridated toothpaste is paraben free. Nevertheless, these participants were not received the allergic test, thus the conclusion of allergy was still unclear.

Many clinical trials used multiple examiners to help collect data. In those situations, examiners need to be trained systematically and calibrated with each other to be a standard examiner. The reason that this study was carried out by one examiner was to avoid inter-examiner variable. Repetition measurement and

intra-class correlation coefficient test (ICC) were also performed to assess the intra-examiner reliability. The present study demonstrated an overall ICC as 0.78 which is acceptable, but the ICC in each time point was not presented. The lacking of inter-observational due to single examiner might be the weakness point of present study. Moreover, using only one examiner is time consume and difficult in schedule arrangement.

In conclusion, the herbal toothpaste and the fluoridated toothpaste are effective in reduction of dental plaque and gingivitis, although there is no additional benefit of the herbal toothpaste over the fluoride toothpaste could be observed. However, with the limitations of this clinical study, the more sample size and long-term study may be required to prove the effectiveness of this herbal toothpaste in reduction of plaque and gingivitis.

References

1. L  e H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965;36:177-87.
2. Lang NP, Cumming BR, L  e H. Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health. *J Periodontol* 1973;44:396-405.
3. Brex MC, Fr  hlicher I, Gehr P, Lang NP. Stereological observations on long-term experimental gingivitis in man. *J Clin Periodontol* 1988;15:621-7.
4. Burt B. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. Position paper: epidemiology of periodontal diseases.

- J Periodontol* 2005;76:1406-19.
5. Davies RM, Ellwood RP, Davies GM. The effectiveness of a toothpaste containing triclosan and polyvinyl-methyl ether maleic acid copolymer in improving plaque control and gingival health: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2004;31:1029-33.
 6. Wu CD, Savitt ED. Evaluation of the safety and efficacy of over-the-counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis. *Periodontol* 2000 2002;28:91-105.
 7. Maldupa I, Brinkmane A, Rendeniece I, Mihailova A. Evidence based toothpaste classification, according to certain characteristics of their chemical composition. *Stomatologija* 2012;14:12-22.
 8. Dhingra K. Aloe vera herbal dentrifices for plaque and gingivitis control: a systematic review. *Oral Dis* 2014;20:254-67.
 9. Razak FA, Rahim ZH. The anti-adherence effect of *Piper betle* and *Psidium guajava* extracts on the adhesion of early settlers in dental plaque to saliva-coated glass surfaces. *J Oral Sci* 2003;45:201-6.
 10. Razak FA, Othman RY, Rahim ZH. The effect of *Piper betle* and *Psidium guajava* extracts on the cell-surface hydrophobicity of selected early settlers of dental plaque. *J Oral Sci* 2006;48:71-5.
 11. Fathilah AR. *Piper betle* L. and *Psidium guajava* L. in oral health maintenance. *J Med Plant Res* 2011;5:156-63.
 12. Rassameemasmaung S, Sirikulsathean A, Amornchat C, Maungmingsook P, Rojanapanthup P, Gritsanapan W. Topical application of *Garcinia mangostana* L. pericarp gel as an adjunct to periodontal treatment. *Complement Ther Med* 2008;16:262-7.
 13. Rassameemasmaung S, Sirikulsathean A, Amornchat C, Hirunrat K, Rojanapanthup P, Gritsanapan W. Effects of herbal mouthwash containing the pericarp extract of *Garcinia mangostana* L on halitosis, plaque and papillary bleeding index. *J Int Acad Periodontol* 2007;9:19-25.
 14. Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963;21:533-51.
 15. Turesky S, Gilmore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J Periodontol* 1970;41:41-3.
 16. Ozaki F, Pannuti CM, Imbronito AV, Pessotti W, Saraiva L, de Freitas NM, et al. Efficacy of a herbal toothpaste on patients with established gingivitis - a randomized controlled trial. *Braz Oral Res* 2006;20:172-7.
 17. Saxer UP, Menghini G, Bohnert KJ, Ley F. The effect of two toothpastes on plaque and gingival inflammation. *J Clin Dent* 1995;6:154-6.
 18. Mullaly BH, James JA, Coulter WA, Linden GJ. The efficacy of a herbal-based toothpaste on the control of plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol* 1995;22:686-9.
 19. Pannuti CM, Mattos JP, Ranoya PN, Jesus AM, Lotufo RF, Romito GA. Clinical effect of a herbal dentifrice on the control of plaque and gingivitis: a double-blind study. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17:314-8.
 20. George J, Hegde S, Rajesh KS, Kumar A. The

efficacy of a herbal-based toothpaste in the control of plaque and gingivitis: a clinico-biochemical study. *Indian J Dent Res* 2009;20:480-2.

21. Jayashankar S, Panagoda GJ, Amaratunga EA, Perera K, Rajapakse PS. A randomised double-blind placebo-controlled study on

the effects of a herbal toothpaste on gingival bleeding, oral hygiene and microbial variables.

Ceylon Med J 2011;56:5-9.

22. Zirwas MJ, Otto S. Toothpaste allergy diagnosis and management. *J Clin Aesthet Dermatol* 2010;3:42-7.

Effectiveness of Caries Infiltration and CPP-ACP Containing Paste on Color Change and Surface Hardness of Artificial White Spot Enamel Lesions

Patchareeya Pintanon¹, Vanthana Sattabanasuk¹ and Danuchit Banomyong¹

¹Department of Operative Dentistry and Endodontics, Faculty of Dentistry, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Correspondence to:

Vanthana Sattabanasuk. Department of Operative Dentistry and Endodontics, Faculty of Dentistry, Mahidol University, Yothi Road, Rajthwee District, Bangkok 10400 Thailand. Tel: 02-2007825 Fax: 02-2007824 E-mail: vanthana.sat@mahidol.ac.th

Abstract

Initial enamel caries is characterized as a whitish colored area with subsurface porosities that may have progressed to a more advanced lesion. Several approaches have been proposed to manage the non-cavitated enamel caries at different levels. This study aimed to determine the color improvement and surface hardness recovery of artificial white spot lesions after two conservative treatments - caries infiltration (Icon) and CPP-ACP containing paste (Tooth Mousse). Enamel carious lesions on extracted human premolars were created and underwent the two respective treatments following each manufacturer's instructions. Groups with or without lesion formation, but no further treatments, were included as negative and positive controls. All specimens were subjected to the demineralization-remineralization pH cycles at 37 °C for 8 weeks. At designated time points, the surface microhardness of the lesions was assessed using Vickers diamond indenter and the difference in color of the lesions to the time before treatment was evaluated using a spectrophotometer. The lesions were also microscopically observed from both top and cross-sectional views using SEM. Parametric and non-parametric statistics were conducted to analyze all data at 95% confidence level. Surface hardness of the lesions decreased significantly after artificial enamel caries formation. Following the caries infiltration treatment, hardness value recovered immediately and maintained throughout the period of pH cycles, even though not be comparable to that of the positive control. Difference in color of the lesions could be significantly detected after single treatment of the resin material. On the other hand, daily application of CPP-ACP containing paste did not regain the surface hardness of the lesions and the color change could not be significantly observed within 8 weeks of pH cycle. In conclusion, the caries infiltration is superior to the CPP-ACP treatment in color and surface hardness improvements of artificial white spot enamel lesions.

Key words: Caries infiltration; Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP); Color difference; Enamel caries; Surface hardness

Received Date: Feb 4, 2016, Accepted Date: Apr 6, 2016

doi: 10.14456/jdat.2016.12

Introduction

Dental caries is one of the major infectious diseases affecting oral health, especially in children and adolescent populations.^{1,2} The process of dental caries is initiated by an accumulation of a complex microbial community, termed as 'dental biofilm', on the tooth surface, subsequently creating a unique microenvironment. Frequent consumption of high-sugar diet, for example, can increase the acidity of such an environment, which in turn disrupts the homeostasis of closely packed bacterial plaque.² As supported by the ecological plaque hypothesis, a shift in the plaque microflora to the high proportion of acid-producing (acidogenic) and acid-resistant (aciduric) bacteria causes the decrease of pH at the tooth surface and therefore, initiates the caries-conducive conditions.³ If the pH of interstitial plaque fluid falls below the critical pH of 5.2 - 5.5, the dissolution of enamel minerals, mainly apatite crystals, can occur. Conversely, once the pH rises above the critical pH, dissolution will cease. Repeated demineralization process would then result in a formation of enamel caries, where increasing intercrystalline spaces and porosities of enamel surface can be detected.^{2,3}

Characteristics of enamel carious lesions comprise the subsurface body of the lesion, which is porous and shows high degree of demineralization and the outermost surface layer, which contains high mineral content.⁴ Thus, initial enamel caries is usually non-cavitated and detected as a subsurface demineralized zone underneath the intact remineralized surface. The

clinical signs of enamel caries are the so-called 'white spot' lesions due to the difference of the refractive indices of adjacent sound enamel and air or electrolytes contained in the porosities of the lesion.² A greater proportion of the incoming light is scattered, resulting to the whitish look of enamel caries compared with the surrounding normal enamel. The white spot lesions are an esthetic point of concern for the patients and several treatment methods have been proposed to manage this unpleasing appearance.⁵⁻⁷

Currently, the concept of minimal intervention in restorative dentistry has been widely accepted. Initial enamel caries should be detected as early as possible to promote the remineralization before a cavitation occurs as well as to stop the progression of the lesions by conservative treatments. A number of noninvasive or microinvasive procedures have been introduced to both arrest caries progression (or further remineralize the lesion) and also improve the esthetic appearance in a suitable period of time.² One modality is the use of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) containing agents. CPP-ACP nanocomplexes are milk-derived compounds, in which amorphous calcium phosphate is stabilized. CPP-ACP has been shown to reduce demineralization and promote remineralization of initial carious lesions by elevating the level of free calcium and phosphate ions at the tooth surfaces.⁸ Also, clinical studies have confirmed the efficacy of CPP-ACP containing paste in reducing the area of enamel white spot lesion after daily application for 4-12 weeks.^{6,7}

Another conservative approach for the

treatment of initial lesions is the caries infiltration. This technique aims to arrest the progression of the initial enamel caries by filling up the subsurface porosities of the lesions with a low-viscosity, light-curing material, so-called resin infiltrants.⁹ The conjugated features would block the diffusion pathways for acids to further dissolve the mineral contents of enamel, hence preventing the progression of caries.¹⁰ Moreover, caries infiltration of the initial enamel lesions is also useful for esthetic reasons. As the infiltrant has a visual appearance similar to normal enamel with the relatively slight difference between both refractive indices, light scattering at the surface can be modified and the white spot lesions can, therefore, be masked and become less noticeable.^{5,9,11}

Regarding the previous information, the use of either CPP-ACP or caries infiltration treatment is likely to potentially protect the enamel caries from further acid challenge and esthetically improve the appearance of the lesions. As there is still no literature comparing the effectiveness of both strategies, it is noteworthy to investigate such benefits of these two conservative approaches. The aims of this *in vitro* study, therefore, were to assess the masking ability on artificial white spot lesions by means of CPP-ACP remineralizing paste and the caries infiltration technique and also to evaluate the protective capability of both treatments to prevent the lesions from acid attack under pH cycle regimen. The null hypotheses were that there would be no difference in the color change and in the surface hardness of enamel white spot

lesions, for either the use of CPP-ACP containing paste or caries infiltration, at different evaluating time points up to 8 weeks of pH cycle.

Materials and methods

Figure 1 shows the overall flowchart illustrating the specimen preparation in the current observation. Intact, non-carious, non-restored human upper premolars extracted for orthodontic purposes were collected as the substrate with the protocol ethically approved by the Institutional Review Board (MU-DT/PY-IRB 2014/DT 086). The teeth were stored in 0.1 % thymol solution at 4 °C and used within 6 months following extraction. Soft tissues and/or calculus were removed and the enamel surfaces were polished with pumice-water slurry using a rubber cup mounted in a slow-speed handpiece. Verification of enamel defects under magnification loupes (×3.5) was performed and the teeth with defects, previous demineralization or cracks were excluded from the study. Roots were cut at the cementum-enamel junction and the crowns were buccolingually sectioned into halves using a diamond blade under water coolant (IsoMet; Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Each half was embedded in acrylic block with the proximal surface facing outside and then polished as little enamel as possible with wet 4000-grit silicon carbide (SiC) abrasive paper, exposing approximately 1×1 mm² flat area of the enamel surface. Two layers of acid-resistant nail varnish were coated, leaving a window of polished enamel surface.

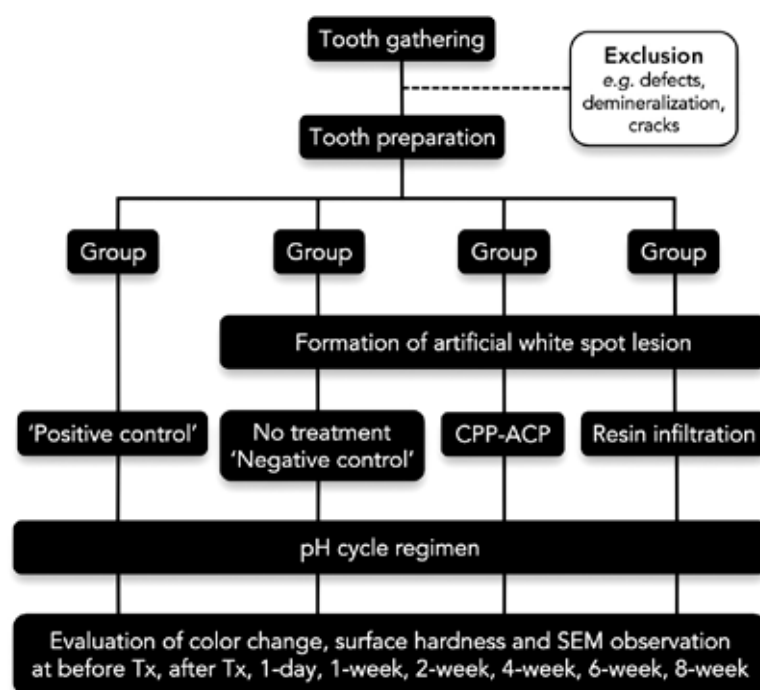


Figure 1 Flowchart of specimen preparation

1. Artificial white spot lesion formation

One group of the specimens was not processed to the formation of artificial white spot lesion, served as a positive control. For the remaining specimens, white spot lesion at the unprotected area was created by immersion of an individual in a 2 mL demineralizing solution, modified from Mukai and others¹², containing 50 mM acetic acid, 1.5 mM CaCl_2 and 0.9 mM KH_2PO_4 adjusted to pH 5.0 with 1M KOH, at 37 °C for 14 days. After the period, the specimens were removed from the solution, rinsed with distilled deionized water (DDW) for 1 min and blot dried with absorbent paper. To produce a naturally mimicking surface layer of white spot lesions, the demineralized specimens were individually placed in a 2 mL remineralizing solution¹² containing 1.5 mM CaCl_2 , 0.9 mM KH_2PO_4 , 130 mM KCl and 20 mM HEPES adjusted to pH 7.0 with 1M KOH, at

37 °C for further 7 days, then again rinsed thoroughly with DDW after immersion. The pH was periodically monitored using a pH meter (Orion 3-Star; Expotech USA, Houston, TX, USA), and the respective solutions were renewed daily after each immersion.

2. Treatments of the artificial white spot lesion

One group of the specimens with artificial white spot lesions was left untreated, served as a negative control. The remaining specimens after lesion formation were randomly treated by either resin infiltration material (Icon; DMG, Hamburg, Germany) or CPP-ACP containing paste (Tooth Mousse; GC Corporation, Tokyo, Japan) following each manufacturer's instructions. Caries infiltration was done to the lesions only one time prior to the pH cycle as described below, while the CPP-ACP containing paste was

applied before the remineralization step of the pH cycle process at each day. The materials used,

compositions and treatment procedures are listed in Table 1.

Table 1 List of materials used in the study

Material	Compositions	Treatment procedures
Resin infiltration material - Icon (DMG, Hamburg, Germany)	<i>Icon-Etch</i> : 15-20% hydrochloric acid <i>Icon-Dry</i> : 99% ethanol <i>Icon-Infiltrant</i> : TEGDMA-based resin, initiators, stabilizers	Apply Icon-Etch and leave undisturbed for 2 min; remove using high-power suction and rinse thoroughly with air-water spray for 30 s. Apply Icon-Dry for 30 s and dry for 5 s. (repeat the etching process if the white spot lesions are still visible after the application of Icon-Dry) Apply Icon-Infiltrant and let set for 3 min; remove excess material with microbrush and light-cure for 40 s; reapply and leave for 1 min; light-cure for 40 s; gently finish the surface using Astropol polishing system.
CPP-ACP containing paste - Tooth Mousse (GC Corporation, Tokyo, Japan)	Recaldent [®] CPP-ACP, glycerol, D-sorbitol, water, sodium carboxymethyl cellulose, propylene glycol, xylitol, sodium saccharine, phosphoric acid, guar gum, silicon dioxide, titanium dioxide, zinc oxide, ethyl paraben, butyl paraben, propyl paraben	Apply 0.01 g of CPP-ACP containing paste and leave in place for 5 min; wipe away with cotton pellet.

CPP-ACP = Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate; TEGDMA = Triethylene glycol dimethacrylate

3. Regimen of pH cycle

Each group of the specimens - intact enamel (positive control), white spot lesion (negative control) and white spot lesions treated with either resin infiltration material or CPP-ACP paste - was subjected to a pH cycle to simulate the demineralizing-remineralizing cycle in the oral cavity. For each one-day cycle, the specimens were separately immersed in the demineralizing solution for 6 h and in the remineralizing solution for 18 h at 37 °C. During each change, the specimens were rinsed with DDW for 1 min, blot

dried with absorbent paper and then immersed in the new respective solutions. The pH cycle process was repeatedly performed for a total of 8 weeks.

4. Evaluation of the color change of artificial white spot lesion

Twenty specimens of each group were employed in this part of the study. The color of each specimen was measured using a spectrophotometer (Spectro Shade Micro; MHT Italy S.p.A, Verona, Italy) at each designated time

point. Each specimen was rinsed, blot dried and the lesion color was measured immediately to prevent any influences from surface dehydration. The images were captured at the same position and analyzed using the software (SpectroShade software version 2.40; MHT Italy S.p.A). The values of L^* (difference in lightness), a^* (green-red coordinate) and b^* (blue-yellow coordinate) were recorded and the color change (ΔE^*) was calculated according to the following equation:

$$\Delta E^*_{(T_a-T_0)} = \sqrt{(L^*_{T_a} - L^*_{T_0})^2 + (a^*_{T_a} - a^*_{T_0})^2 + (b^*_{T_a} - b^*_{T_0})^2}$$

where ΔE^* is the color difference of artificial white spot lesion at each of the designated evaluating time points (T_a), i.e., immediate after treatment (T_1), 1 day (T_2), 1 week (T_3), 2 weeks (T_4), 4 weeks (T_5), 6 weeks (T_6), and 8 weeks (T_7) after treatment, to the time before treatment (T_0).

5. Measurement of surface hardness

One hundred and fifty specimens were used in this part - 35 each for white spot lesion groups with treatments and 40 each for positive and negative control groups. Prior to the test, baseline surface microhardness was assessed to verify that all specimens had Vickers hardness number (VHN) in the range of sound enamel (370-420 VHN).² The specimens were then assigned to each subgroup in balanced manner (4 groups and 8 time points, in which the same specimens were used at both T_0 and T_1 for the positive and negative controls). The formation of artificial white spot lesion, the application procedures of each treatment and the pH cycle regimen were performed as described previously. At each time

point, the surface microhardness was determined using a fully automatic tester with Vickers diamond indenter under a microscope at $\times 500$ magnification (Model ARS 9000; Future-Tech Corporation, Kanagawa, Japan). A load of 100 g was applied onto the surface for 15 s. Three indentations, 100 μ m apart, were made and the average VHN was calculated to represent hardness value of each specimen.

6. Scanning electron microscopic (SEM) assessment

The representative specimens from each tested subgroup were sectioned vertically into halves through the middle of the area of interest. One half was used to observe the surface morphology from top view. Cut surface of another half was lightly polished with a series of increasingly finer grit-size of SiC abrasive papers, followed by a diamond suspension down to 1 μ m and used to microscopically inspect the cross-sectional view of the surface. All specimens were rinsed with DDW, dried, mounted on aluminium stubs and sputter-coated with gold, then examined under a scanning electron microscope (JSM 6610 LV; JEOL, Tokyo, Japan).

7. Statistical analysis

Collected data were analyzed using a statistical software system (SPSS 17.0; SPSS, Chicago, IL, USA). The central tendencies of ΔE^* and VHN values were calculated. Non-parametric Kruskal-Wallis, Wilcoxon signed-rank and Mann-Whitney U tests were carried out for analysis of the color difference within and between subgroups as the Shapiro-Wilk test did

not assume the normal distribution of all ΔE^* data. For hardness values, parametric One-way ANOVA with Dunnett's T3 multiple comparison test was used since Levene's method indicated heterogeneity among the variances. The significance level was set at $p < 0.05$.

Results

1. Color change of artificial white spot lesion

Line graph presenting medians, including the first and third quartiles, of ΔE^* values between

each evaluating time to the time before treatment (T_0) is shown in Figure 2. Immediately after the caries infiltration treatment, color of the lesion changed significantly and was statistically different from other groups during the period of pH cycle ($p < 0.001$). For CPP-ACP application, similarity in ΔE^* values to those of the negative control was observed ($p \geq 0.057$), indicating no significant color change of white spot lesion after treatment.

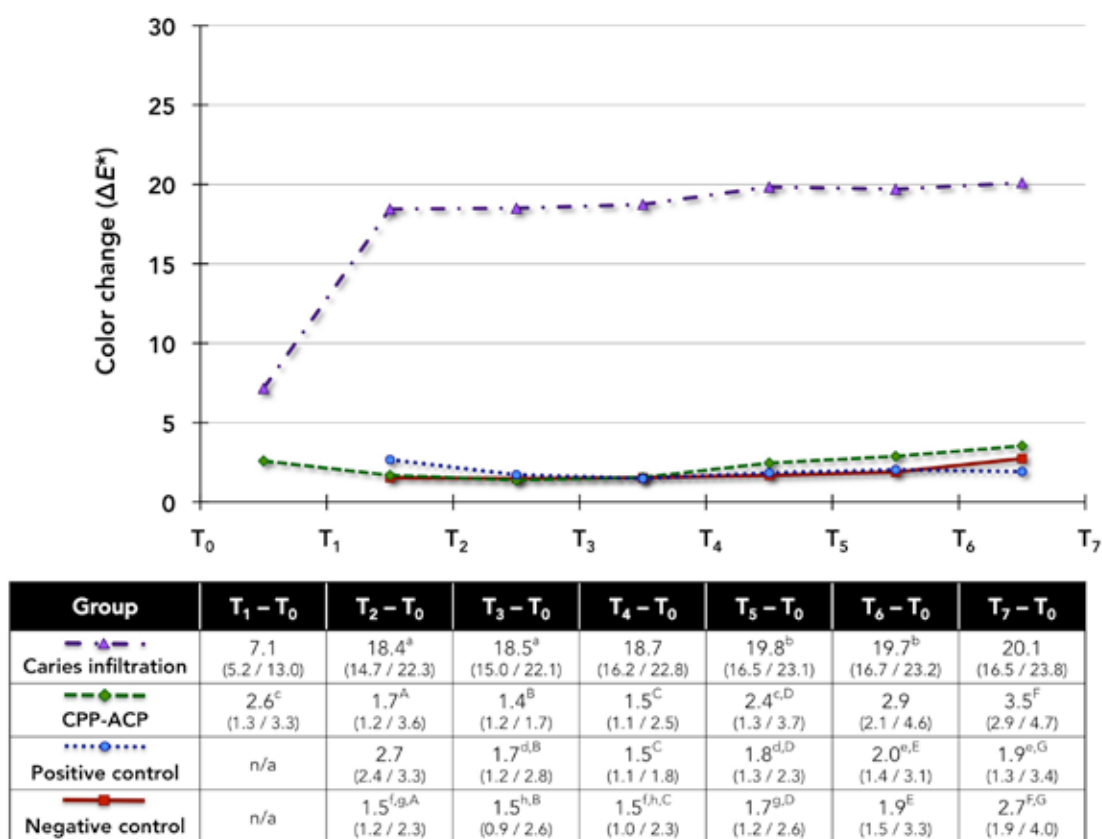


Figure 2 Color differences [median ΔE^* (25th/75th percentiles)] of artificial white spot lesion at each designated evaluating time point to the time before treatment (T_0). Same lowercase superscript letters indicate no statistically significant difference between subgroups in the same row ($p > 0.05$). Same uppercase superscript letters indicate no statistically significant difference between subgroups in the same column ($p > 0.05$)

2. Surface hardness

Figure 3 depicts the line graph displaying means and standard deviations of VHN for each subgroup at different evaluating time points. Baseline enamel surface hardness was noted at 393.8 ± 10.2 VHN. After artificial white spot lesion formation, VHN decreased significantly to approximately 37-64 VHN ($p \leq 0.002$). Throughout the pH cycle process, daily application of CPP-ACP containing paste did not improve the surface

hardness ($p \geq 0.999$), which also was statistically similar to that of the white spot lesion with no treatment at every time points ($p \geq 0.596$). On the other hand, a single application of resin infiltration material immediately increased VHN significantly ($p = 0.026$) and remained stable up to 8 weeks of pH cycle ($p \geq 0.137$); however, such values were not comparable to those of intact enamel ($p < 0.001$).

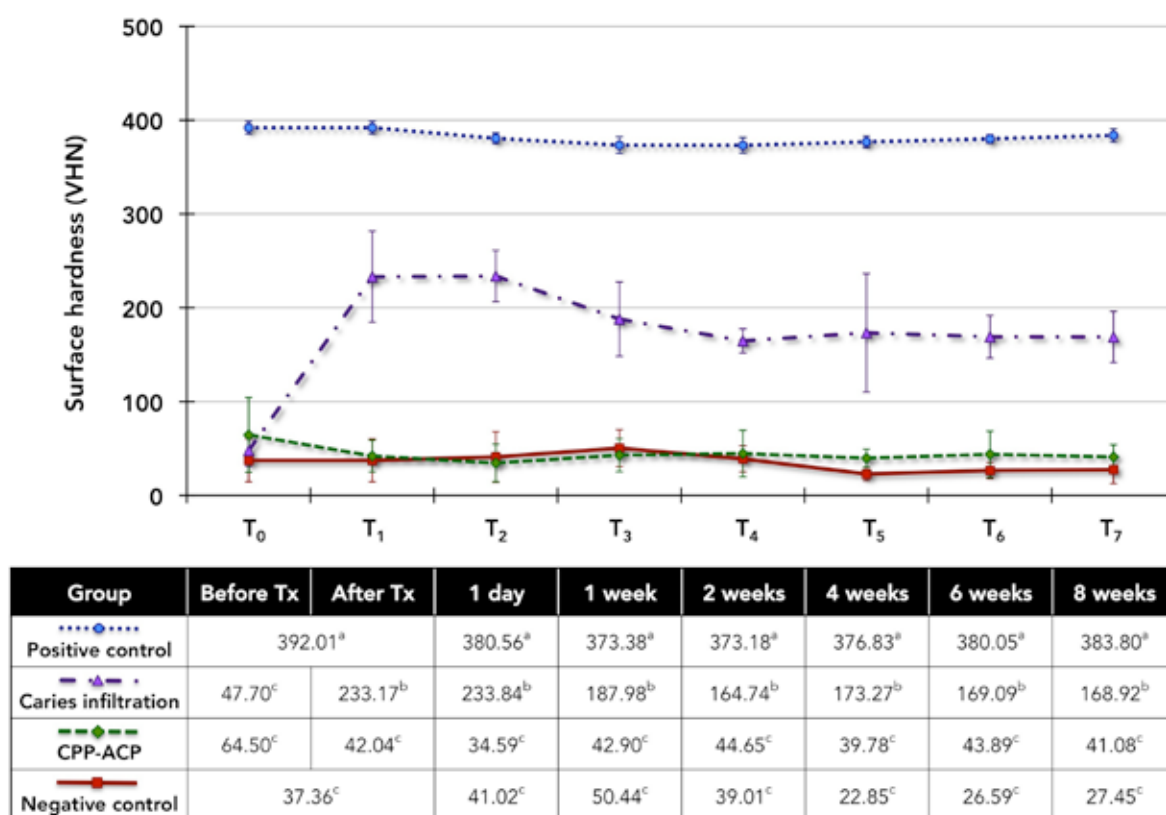


Figure 3 Means and standard deviations of enamel surface hardness (VHN) of each subgroup at different evaluating time points. Same superscript letters show no statistically significant difference between subgroups ($p > 0.05$)

3. SEM assessment

Figure 4 represents the surface characteristics and cross-sectional microstructures of the enamel surfaces at immediately after each treatment (T_1). Smooth and homogenous

surfaces were discerned for the positive control group (Fig. 4A and 4B). Characteristics of white spot lesion, i.e., surface erosion and microcavities (Fig. 4C), including intact surface layer and subsurface demineralization (Fig. 4D) could be

clearly observed for the negative control group with lesion depth of 30-40 μm . After immediate application of resin infiltration material, typical keyhole appearance of demineralized enamel surface was not apparent and seemed to be covered with resin material (Fig. 4E). The cross-sectional view of white spot lesion after caries

infiltration also showed disappearance of subsurface lesion (Fig. 4F), which was similar to what has been detected in the group without lesion formation. For the CPP-ACP-treated group, similar features as compared to the untreated enamel white spot lesion were shown (Fig. 4G and 4H).

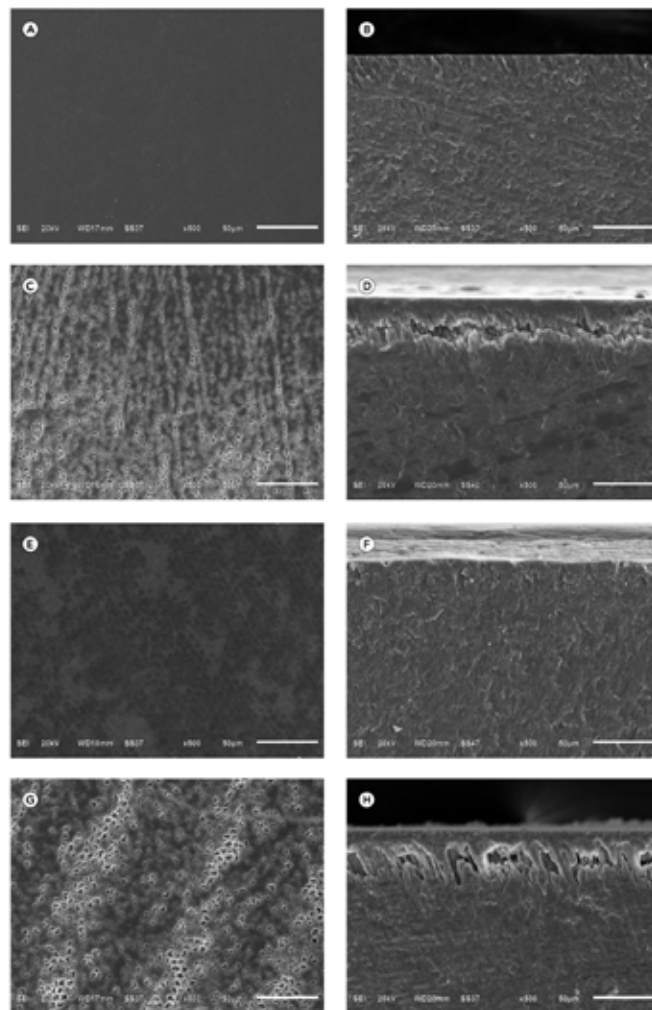


Figure 4 Representative SEM micrographs ($\times 500$ magnification) of the surface characteristics (left) and cross-sectional microstructures (right) of enamel surfaces at immediately after each treatment (T_1). (A and B) Positive control group; (C and D) Artificial white spot lesion without treatment (Negative control group); (E and F) Artificial white spot lesion treated with resin infiltration material; (G and H) Artificial white spot lesion treated with CPP-ACP containing paste

Microscopic characteristics of enamel, both top and cross-sectional views, after pH cycle for 8 weeks (T_7) are shown in Figure 5. In general, all subgroups showed similar enamel morphologies to those observed immediately after treatments. Enamel surfaces of both positive control and negative control groups seemed to not significantly alter after 8-week period of pH

cycle (Fig. 5A-5D). Coverage of resin material to the artificial white spot lesions was still intact (Fig. 5E and 5F). For CPP-ACP application, similar features of both views of the lesions compared to those prior to the treatment were observed (Fig. 5G and 5H), in spite of the daily application of Tooth Mousse throughout the pH cycle period.

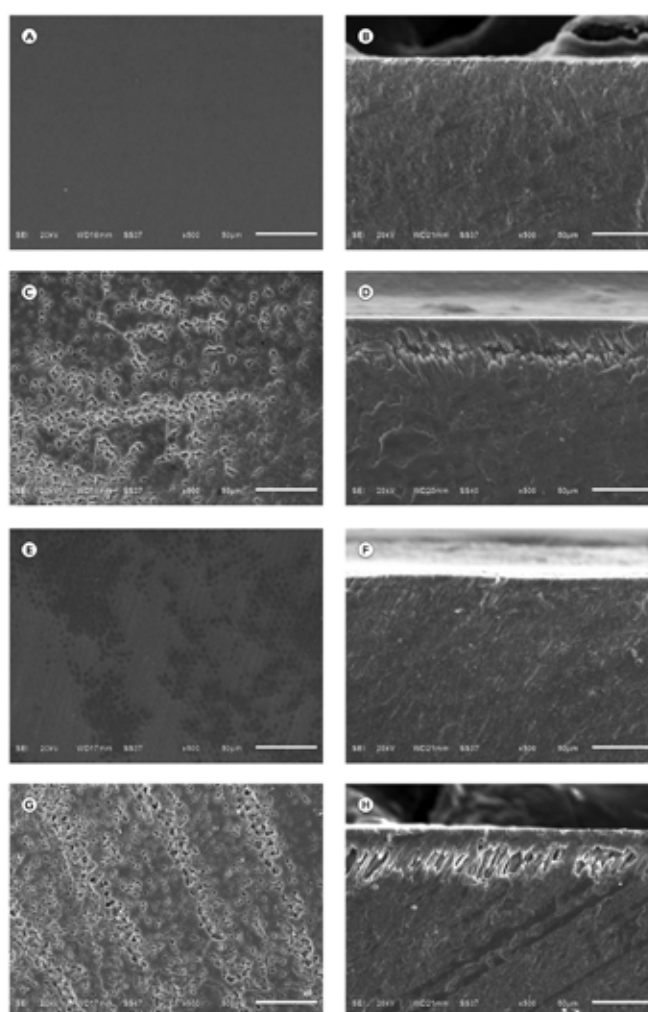


Figure 5 Representative SEM micrographs ($\times 500$ magnification) of the surface characteristics (left) and cross-sectional microstructures (right) of enamel surfaces after pH cycle for 8 weeks (T_7). (A and B) Positive control group; (C and D) Artificial white spot lesion without treatment (Negative control group); (E and F) Artificial white spot lesion treated with resin infiltration material; (G and H) Artificial white spot lesion treated with CPP-ACP containing paste

Discussion

Typical characteristics of initial non-cavitated enamel caries are a whitish opaque appearance with loss of luster and micro-porosities at the surface, which extend deeper into the enamel as subsurface lesion.² Such features not only affect the patient's look, especially at the esthetically relevant teeth, but also facilitate the caries progression, even though the less acid-soluble surface zone is presented.^{2,4} Currently, there are several approaches aimed to treat and prevent the caries process. The noninvasive and microinvasive measures are of interest in everyday dental practice as to promote maximum conservation of tooth structure and defer the operative intervention as long as possible. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) remineralizing agent and the caries infiltration technique are two strategies, which claim to prevent enamel demineralization (or further promote remineralization) and improve the teeth to their natural color.⁵⁻¹¹ The results of the current investigation, however, clearly demonstrated that both approaches provided different results with positive outcomes derived from the caries infiltration. Only single application of resin material to the artificial enamel caries immediately enhanced the surface hardness and improved color of the lesion compared with the daily use of CPP-ACP containing paste. Throughout the period of pH cycle for 8 weeks, both parameters were also maintained, wherein those after daily application of CPP-ACP seemed not to be ameliorated. The null hypotheses that

there would be a similarity in the color change and in the surface hardness of enamel white spot lesions between the two treatments, therefore, were rejected.

The general principle behind caries infiltration is to penetrate the lesions with the low-viscosity, light-polymerizable resin material.⁹ After the surface layer of enamel caries has been etched with hydrochloric acid gel (Icon-Etch) and is fully dried with ethanol (Icon-Dry), the TEGDMA-based resin (Icon-Infiltrant) is able to penetrate the lesions up to a few hundred micrometers.^{9,13} Following photopolymerization, the resin seals the lesions externally and internally, as clearly observed from both views of SEM micrographs. Low-viscosity resin material then formed the diffusion barrier on and within the caries, and re-hardened the lesions by increasing the enamel surface hardness, confirming the results of previous investigations.^{14,15} However, the structure of TEGDMA molecule has low molecular weight and is highly flexible.^{13,16} Mechanical property of resin-infiltrated lesion would, therefore, not be comparable to that of the intact enamel. Nevertheless, infiltration of the lesions could prevent further acid demineralization. Stability of enamel surface hardness was detected, at least during the 8-week period of pH cycle. It would hence affirm the efficacy of caries infiltration to arrest the progression of caries, as supported by a number of laboratory and clinical studies.^{10,14,15} Slight decrease of hardness value, but not statistically different, after a week of pH cycle might be due to the water softening of TEGDMA polymer networks.¹⁶

An alternative avenue to improve the enamel lesion hardness is an enhancement of calcium and phosphate delivery, with the application of CPP-ACP containing paste. High concentrations of calcium and phosphate ions at the tooth surface after CPP-ACP treatment are freely bioavailable to diffuse down the concentration gradients into enamel subsurface lesions, thereby promoting remineralization by recrystallization of existing crystal remnants.⁸ However, throughout the period of pH cycle in this study, the surface of enamel carious lesion could not be strengthened despite the daily treatment of CPP-ACP. Typical characteristics of white spot lesions were still detected microscopically, which resemble those observed in the negative control group. These findings are not in agreement with the results of previous literature.¹⁷ The typical intact or pseudo-intact surface layer of initial enamel caries, which was created to mimic the natural carious lesion, might have blocked the diffusion of free calcium and phosphate ions into the subsurface body of the lesion^{4,18}, especially if the CPP-ACP has been applied solely in the form of cream, rather than in slurry preparation as used in the former observations.^{8,17,19} Furthermore, this experimental study provided the absence of dental plaque, which is essential for the action of CPP-ACP molecules, no reservoir for a high concentration of both ions was available. It has been previously claimed that sole use of CPP-ACP containing paste in the *in vitro* investigation might not be sufficient to demonstrate the remineralizing potential of CPP-ACP.¹⁷

In addition to protecting the enamel

lesions from acid challenge, esthetic improvement has also been a concern for the treatments of white spot appearance.⁵⁻⁷ It is clearly shown from the current outcomes that, immediately after the caries infiltration, the color of the lesion altered significantly. Lightness reduction was observed (data not shown) and the color difference could be noticed visually as median ΔE^* value exceeded that considering clinically perceptible at higher than 3.3. Esthetic appearance hence can be significantly enhanced within a relatively short period of time. This improvement would confirm the masking ability of caries infiltration, based on the modification of light refraction within the enamel lesion.^{5,9,11} Greatly significant difference in color change after 1 day of pH cycle, however, were beyond expectation. It might be assumed that the resin-infiltrated enamel lesions would show improved appearance and better color mask after 1 day following treatment.¹¹ Or else, it could possibly owing to some interactions between the resin material with demineralizing and remineralizing solutions during pH cycle regimen, even though the surface finishing was performed carefully to remove the outermost oxygen inhibition layer. Due to the hydrophilic nature of TEGDMA, impact on water sorption and discoloration during storage in aqueous solutions might be anticipated.^{16,20} Clinically, final polishing after polymerization of the infiltrant material is therefore, important to avoid discoloration of superficial unpolymerized resin components.

On the other hand, CPP-ACP containing paste showed no significant influence on the color improvement of enamel white spot lesions.

Only slight difference in color change could be detected for the lesions in spite of the daily application of Tooth Mousse. Such difference could, however, not be noticeable ($\Delta E^* \leq 3.3$), meaning that the white spot appearance was not significantly improved. The result is in contrast to what have been found in the previous clinical studies.^{6,7} As mentioned above, the sole use of CPP-ACP containing paste showed insufficient effect on enamel remineralization in the laboratory study.¹⁷ Color of the white spot lesions, therefore, may also not be recovered for similar reasons. The observation period of this study, however, was limited to 8 weeks with pH cycle protocols. Besides, the current regimen of acid challenge tends to favor the remineralizing model, which might influence the formation of intact surface layer to prevent the diffusion of calcium and phosphate ions.²¹ It is important to take these factors into account because the thickness of the outermost zone of enamel caries possibly affects the subsequent demineralization and remineralization.^{4,18}

Within the limitations of this experimental study, caries infiltration could stabilize the artificial enamel lesions by infiltrating the subsurface porosities of the defects and increasing the surface hardness immediately after treatment. Enhanced mechanical property of the resin-infiltrated lesions was maintained throughout the 8-week period of acid challenge. Color improvement of the white spot appearance was also detected following the single application of resin infiltration material. Daily treatment with CPP-ACP containing paste, in contrast, was unable to regain

the surface microhardness as well as failed to improve whitish discoloration of the initial enamel caries during pH cycle process for 8 weeks. Future investigations are needed to further elucidate these two minimal invasive treatments to enamel carious lesions in various conditions of laboratory models and most importantly in the clinical situations.

Conclusion

Caries infiltration with resin material is shown to immediately improve the surface hardness and esthetic appearance of artificial white spot lesions *in vitro*. On the other hand, CPP-ACP remineralizing paste is unsuccessful in the enhancement of physical and mechanical characteristics of initial enamel caries during 8 weeks of demineralizing-remineralizing regimen.

References

1. Bureau of Dental Health. The 7th Thailand National Oral Health Survey. Nonthaburi: Bureau of Dental Health, Department of Health, Ministry of Public Health; 2012.
2. Fejerskov O, Kidd E, editors. Dental caries - The disease and its clinical management. 2nd ed. Copenhagen: Blackwell Munksgaard; 2003.
3. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community – implications for health and disease. *BMC Oral Health* 2006;6:S14.
4. Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11:481-95.
5. Paris S, Schwendicke F, Keltsch J, Dörfer C, Meyer-Lueckel H. Masking of white spot lesions

- by resin infiltration *in vitro*. **J Dent** 2013;415:e28-34.
6. Bröchner A, Christensen C, Kristensen B, Tranæus S, Karlsson L, Sonnesen L, *et al*. Treatment of post-orthodontic white spot lesions with casein phosphopeptide-stabilised amorphous calcium phosphate. **Clin Oral Investig** 2011;15:369-73.
 7. Bailey DL, Adams GG, Tsao CE, Hyslop A, Escobar K, Manton DJ, *et al*. Regression of post-orthodontic lesions by a remineralizing cream. **J Dent Res** 2009;88:1148-53.
 8. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. **J Dent Res** 1997;76:1587-95.
 9. Paris S, Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Resin infiltration of natural caries lesions. **J Dent Res** 2007;86:662-6.
 10. Paris S, Meyer-Lueckel H. Infiltrants inhibit progression of natural caries lesions *in vitro*. **J Dent Res** 2010;89:1276-80.
 11. Omar S. Using resin infiltration to treat developmental defects of enamel: Three case reports. **J Restor Dent** 2013;1:31-5.
 12. Mukai Y, Lagerweij MD, ten Cate JM. Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root surface caries *in vitro*. **Caries Res** 2001;35:317-24.
 13. Araújo GS, Sfalcin RA, Araújo TG, Alonso RC, Puppim-Rontani RM. Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of experimental infiltrants. **J Dent** 2013;41:1014-9.
 14. Paris S, Schwendicke F, Seddig S, Müller WD, Dörfer C, Meyer-Lueckel H. Micro-hardness and mineral loss of enamel lesions after infiltration with various resins: Influence of infiltrant composition and application frequency *in vitro*. **J Dent** 2013;41:543-8.
 15. Torres CRG, Rosa PCF, Ferreira NS, Borges AB. Effect of caries infiltration technique and fluoride therapy on microhardness of enamel carious lesions. **Oper Dent** 2012;37:363-9.
 16. Gonçalves L, Filho JDN, Guimarães JGA, Poskus LT, Silva EM. Solubility, salivary sorption and degree of conversion of dimethacrylate-based polymeric matrixes. **J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater** 2008;85B:320-5.
 17. Al-Mullahi AM, Toumba KJ. Effect of slow-release fluoride devices and casein phosphopeptide/amorphous calcium phosphate nanocomplexes on enamel remineralization *in vitro*. **Caries Res** 2010;44:364-71.
 18. Lynch RJ, Mony U, ten Cate JM. Effect of lesion characteristics and mineralizing solution type on enamel remineralization *in vitro*. **Caries Res** 2007;41:257-62.
 19. Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilized solutions of calcium, phosphate and fluoride. **Caries Res** 2008;42:88-97.
 20. Sideridou ID, Achilias DS. Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. **J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater** 2005;74:617-26.
 21. Buzalaf MA, Hannas AR, Magalhães AC, Rios

D, Honório HM, Delbem AC. pH-cycling models for *in vitro* evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control:

strengths and limitations. *J Appl Oral Sci* 2010;18:316-34.

