



วิทยาศาสตร์
ปีที่ 72 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2565 | e-ISSN 2730-4280



ทันตแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

Advisory Board

Asst. Prof. Anonknart	Bhakdinaronk
Assoc. Prof. Surasith	Kiatpongsan
Dr. Charmary	Reanamporn
Clinical Prof. Pusadee	Yotnuengnit
Lt. Gen. Nawarut	Soonthornwit
Dr. Wantana	Puthipad
Dr. Werawat	Satayanurug
Assoc. Prof. Wacharaporn	Tasachan

Board of Directors 2022 - 2025

President	Dr. Adirek	Sriwatanawongsa
President Elect	Assoc. Prof. Dr. Sirivimol	Srisawasdi
1 st Vice-President	Assoc. Prof. Dr. Nirada	Dhanesuan
2 nd Vice-President	Asst. Prof. Bundhit	Jirajariyavej
Treasurer	Assoc. Prof. Poranee	Berananda
Secretary General	Dr. Chavalit	Karnjanaopaswong
Deputy Secretary General	Maj. Thanasak	Thumbuntu
Foreign Secretary General	Asst. Prof. Ekachai	Chunhacheevachaloke
Editor	Dr. Ekamon	Mahapoka
Chairman of the Convention Facilities	Dr. Prinya	Pathomkulmai
Executive Committee	Assoc. Prof. Porjai	Ruangsi
	Assoc. Prof. Dr. Siriruk	Nakornchai
	Dr. Somchai	Suthirathikul
	Dr. Anuchar	Jitjaturunt
	Asst. Prof. Piriya	Cherdsatirakul
	Asst. Prof. Dr. Sutee	Suksudaj
	Dr. Terdsak	Utasri
	Dr. Thornkanok	Pruksamas
	Asst. Prof. Taksid	Charasseangpaisarn

THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

71 Ladprao 95 Wangthonglang Bangkok 10310, Thailand. Tel: 02-539-4748 Fax: 02-514-1100 E-mail: thaidentalnet@gmail.com



ทันตแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

Advisory Board

Assoc. Prof. Porjai Ruangsri
Assist. Prof. Phanomporn Vanichanon
Assoc. Prof. Dr. Patita Bhuridej

Prof. Dr. Mongkol Dejnakintra
Prof. Chainut Chongruk
Special Prof. Sitthi S Srisopark

Editor

Dr. Ekamon Mahapoka

Associate Editors

Prof. Dr. Waranun Buajeeb
Assoc. Prof. Dr. Nirada Dhanesuan

Assoc. Prof. Dr. Siriruk Nakornchai

Editorial Board

Assoc. Prof. Dr. Chaiwat Maneenut, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Lertrit Sarinnaphakorn, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Chootima Ratisoontom, Chulalongkorn University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Oranat Matungkasombut, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Kajorn Kungsadalpipob, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Thantrira Porntaveetus, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Pintu-On Chantarawatit, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Wannakorn Sriarj, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Pisha Pittayapat, Chulalongkorn University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Yaowaluk Ngoenwiwatkul, Mahidol University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Somsak Mitrirattanaku, Mahidol University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Supatchai Boonpratham, Mahidol University, Thailand
Prof. Dr. Anak Iamaroon, Chiang Mai University, Thailand
Prof. Dr. Suttichai Krisanaprakornkit, Chiang Mai University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Napapa Aimjirakul, Srinakharinwirot University, Thailand
Dr. Jaruma Sakdee, Srinakharinwirot University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Aroonwan Lam-ubol, Srinakharinwirot University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Sutee Suksudaj, Thammasat University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Ichaya Yiemwattana, Naresuan University, Thailand.
Prof. Boonlert Kukiattrakoon, Prince of Songkla University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Vanthana Sattabanasuk, Royal College of Dental Surgeons, 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

Tassapol Intarasomboon
Pimpanid Laomana
Anyamanee Kongcheepa

Manager

Assoc. Prof. Poranee Berananda

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

Publisher and artwork: Rungsilp Printing Co., Ltd

Please send manuscripts to Dr. Ekamon Mahapoka

Address: 71 Ladprao 95 Wangtonglang Bangkok 10310, Thailand E-mail: jdateditor@thaidental.or.th

Instruction for Authors

The Journal of the Dental Association of Thailand (*J DENT ASSOC THAI*) supported by the Dental Association of Thailand, is an online open access and peer-reviewed journal. The journal welcomes for submission on the field of Dentistry and related dental science. We publish 4 issues per year in January, April, July and October.

» Categories of the Articles «

1. Review Articles: a comprehensive article with technical knowledge collected from journals and/or textbooks which is profoundly criticized or analyzed, or tutorial with the scientific writing.

2. Case Reports: a clinically report of an update or rare case or case series related to dental field which has been carefully analyzed and criticized with scientific observation.

3. Original Articles: a research report which has never been published elsewhere and represent new significant contributions, investigations or observations, with appropriate experimental design and statistical analysis in the filed of dentistry.

» Manuscript Submission «

The Journal of the Dental Association of Thailand welcome submissions from the field of dentistry and related dental science through only online submission. The manuscript must be submitted via <http://www.jdat.org>. Registration by corresponding author is once required for the article's 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 (word97-2003). All figures, and tables should be submitted as separated files (1 file for each figure or table). For the acceptable file formats and resolution of image will be mentioned in 8. of manuscript preparation section.

» Scope of Article «

Journal of Dental association of Thailand (JDAT) is a quarterly peer-reviewed scientific dental journal aims to the dissemination and publication of new knowledges and researches including all field of dentistry and related dental sciences

» Manuscript Preparation «

1. For English article, use font to TH Sarabun New Style size 14 in a standard A4 paper (21.2 x 29.7 cm) with 2.5 cm margin on a four sides. The manuscript should be typewritten.

2. For Thai article, use font of TH Sarabun New Style size 14 in a standard A4 paper (21.2 x 29.7 cm) with 2.5 cm margin on a four sides. The manuscript should be typewritten

with 1.5 line spacing. Thai article must also provide English abstract. All reference 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 placed on the top right corner. The length of article should be 10-12 pages including the maximum of 5 figures, 5 tables and 40 references for original articles. (The numbers of references are not limited for review article).

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.

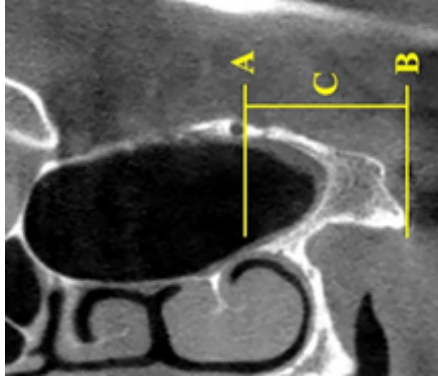
5. Standard abbreviation must be used for abbreviation and symbols. The abbreviation should not be used in the title and abstract. Full words of the abbreviation should be referred at the end of the first abbreviation in the content except the standard measurement units.

6. Position of the teeth may use full proper name such as maxillary right canine of 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. Table: should be typed on separate sheets and number consecutively with the Arabic numbers. Table should self-explanatory and include a brief descriptive title. Footnotes to tables indicated by lower-case superscript letters are acceptable.

8. Figure : the photographs and figures must be clearly illustrated with legend and must have a high resolution and acceptable file types to meet technical evaluation of JDAT that is adapted from file submissions specifications of Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/pub/filespec-images/#int-disp>). We classify type of figure as 3 types following: line art, halftones and combo (line art and halftone combinations) The details of description, required format, color mode and resolution requirement are given in table below.

Numbers, letters and symbols must be clear and even throughout which 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.

Image type	Description	Example	Recommended format	Color mode	Resolution
Line art	An image which is composed of line and text and is not contained of tonal or shading areas.		tif. of eps.	Monochrome 1-bit of RGB	900-1200 dpi
Half tone	A continuous tone photograph which does not compose of text.		tif.	RGB of Graycale	300 dpi
Combo	Combination of line art and half tone.		tif. of eps.	RGB of Graycale	500-900 dpi

» Contact Address «

Editorial Staff of JDAT

The Dental Association of Thailand

71 Ladprao 95, Wangtonglang, Bangkok 10310, Thailand.

Email: jdateditor@thaidental.or.th Tel: +669-7007-0341

» 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

The abstract must be typed in only paragraph. Only English abstract is required for English article. Both English and Thai abstract 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 comma (,) in-between.

3. Text

The text of the original articles should be organized in section 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, human material samples, human participants and animal samples, authors should indicate that the study was performed according to the Experiment involving human or animal subjects such as Declaration of Helsinki 2000, available at: <https://www.wma.net/what-we-do/medical-ethics/declaration-of-helsinki/doh-oct2000/>, or has been approved by

the ethic committees of each institute (*ethic number is required).

- **Results:** Results are presentation of the discovery of experiment 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 of 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 informed in the discussion and indicate the ways to make good use of the results.

- **Conclusion:** indicates the brief results and the conclusion of the analysis.

- **Acknowledge:** indicates the institute or persons helping the authors, especially on capital sources of researches and numbers of research funds (if any).

- **Conflicts of interest :** for the transparency and helping the reviewers assess any potential bias. JDAT requires all authors to declare any competing commercial interests in conjunction with the submitted work.

- **Reference:** 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 of 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 reference style using Arabic numbers, making order according to the texts chronologically. Titles of the Journal must be in Bold and Italics. The publication year, issue and pages are listed respectively without volume.

Sample of references from articles in Journals

- Authors

Zhao Y, Zhu J: *In vivo* color measurement of 410 maxillary anterior teeth. *Chin J Dent Res* 1998;1(3):49-51.

- Institutional authors

Council in Dental Materials and Devices. New American Dental Association Specification No.27 for direct filling resins. *J Am Dent Assoc* 1977;94(6):1191-4

- No author

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15

Sample of references from books and other monographs

- Authors being writers

Neville BW, Damn DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and maxillofacial pathology. Philadelphia: WB 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

- Books with authors for each separate chapter

and also have editor

Sanders BJ, Handerson 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. R The Journal of the Dental Association of Thailand (JDAT): (ISSN 2408-1434) online open access and double-blind peer review journal and also supported by the Dental Association of Thailand advances in clinical neurophysiology. Proceeding of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam; Elsevier; 1996.

- Conference paper

Hotz PR. Dental plaque control and caries. In: Lang PN, Attstrom R, Loe H, editors. Proceedings of the European Work shop on Mechanical Plaque Control; 1998 May 9-12; Berne, Switzerland. Chicago: Quintessence Publishing; 1998. p. 25-49.

- 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 these articles are only accepted in electronic format

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

Rasperini G, Acunzo R, Limioli E. Decision making in gingival rec experience. *Clin Adv Periodontics* 2011;1: 41-52. doi:10.1902 cap.2011.1000002.

- Online only article (without doi)

Aboud 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://nursingworld.org/AJN/2002/june/WaWatch.htmArticle>

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 noticed 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 and the acceptance of the articles. 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>

The price of addition color printing is extra charged 10000 bath/article (vat included).

Note: Color printing of selected article is considered by editorial board. (no extra charge)

» Updated April, 2022 «



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 72 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน พ.ศ. 2565

บทความปริทัศน์

Masticatory Muscle Responses to Orthodontic
Bite-raising Appliances

Passakorn Wasinwasukul
Udom Thongudomporn

บทวิทยากร

Efficacy of Drinking Green Tea in Antimicrobial
Activity Following Surgical Removal of Impacted
Lower Third Molars: A Randomized Controlled Trial

Boosana Kaboosaya
Kornchawan Attaudomporn
Kullapat Smuthkochorn
Rueangphit Hotrawaisaya
Ruchanee Ampornaramveth

การวิเคราะห์ภาพถ่ายกะโหลกศีรษะด้านข้างในเด็กไทยอายุ
ระหว่าง 7-10 ปี กลุ่มหนึ่ง

ศิพิมพ์ คงเอี่ยม
ทิพวรรณ ธาราพัฒนานนท์
สมกมล วณิชวัฒนะ

ความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนของ
ไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมชนิดวันเคิร์ฟ ไฮเฟลกซ์อีดีเอ็ม
เวฟวันโกลด์ และเรซิพรอคบลู ในคลองรากจำลองที่มีหนึ่ง
และสองความโค้ง

เถลิงศักดิ์ สมัครสมาน
ภิญญดา สิ้นสมุทร
รัชฎา ฉายจิต
อุทัยวรรณ อารยะตระกูลลิขิต

Prevalence of *Enterococcus faecalis* and Association
with Clinical Characteristics in Teeth Requiring
Endodontic Retreatment Sopida Thipung

Anchana Panichuttra
Chootima Ratisoontorn
Somsinee Pimkhaokham
Oranart Matangkasombut

Contents

Volume 72 Number 3 July - September 2022

Review Article

427 Masticatory Muscle Responses to Orthodontic
Bite-raising Appliances

Passakorn Wasinwasukul
Udom Thongudomporn

Original Articles

434 Efficacy of Drinking Green Tea in Antimicrobial
Activity Following Surgical Removal of Impacted
Lower Third Molars: A Randomized Controlled Trial

Boosana Kaboosaya
Kornchawan Attaudomporn
Kullapat Smuthkochorn
Rueangphit Hotrawaisaya
Ruchanee Ampornaramveth

441 Cephalometric Analyses in A Group of Thai
Children between 7-10 Years of Age

Siphim Khongaiam
Thipawan Tharapiwattananon
Somkamol Vanichvatana

450 Cyclic Fatigue Resistance of One Curve, Hyflex
EDM, WaveOne Gold and Reciproc Blue Nickel-
Titanium Rotary Files in Single and Double Curvature
Simulated Canals

Thalerngsak Samaksamarn
Pinyada Sinsamutra
Rajda Chaichit
Uthaiwan Arayatrakoollikit

459 Prevalence of *Enterococcus faecalis* and Association
with Clinical Characteristics in Teeth Requiring
Endodontic Retreatment Sopida Thipung

Anchana Panichuttra
Chootima Ratisoontorn
Somsinee Pimkhaokham
Oranart Matangkasombut



วิทยาลัยทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 72 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน พ.ศ. 2565

บทความวิชาการ

Comparison of the 3D Accuracy between Digital and Conventional Impressions in Full Arch Multi-unit Implants at Implant and Abutment Levels: An *In-Vitro* Study

Ataya Chinwongs

Pravej Serichetapongse

การประเมินการสึกของแปรงสีฟันและผลต่อผิวเคลือบฟันน้ำนมด้วยเครื่องแปรงฟันในห้องปฏิบัติการ

ดวงสิน พฤษสุวรรณ์

ปริม อวยชัย

ยศกฤต หล่อชัยวัฒนา

อรุณี ลายธีระพงศ์

Cytotoxicity Evaluation of Herbal Mouthwashes Containing Ginseng Extract on Human Gingival Fibroblast-like Cells: An *In Vitro* Study

Nattanun Tansiri

Titikan Ruensukon

Warat Hatsadaloi

Vorapat Trachoo

Yossakit Lochaiwatana

Arune Laiteerapong

Evaluation of Dens Evaginatus by CBCT and Exome sequencing in Thai Population

Suchaya Nimkulrat

Anchana Panichuttra

Chootima Ratisoontorn

Thantrira Pornaveetus

เปรียบเทียบฟองอากาศของเรซินซีเมนต์ชนิดต่าง ๆ และที่ความหนาฟิล์มที่แตกต่างกันภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

นฤมล ศรีประเสริฐ

อิศราวัลย์ บุญศิริ

วสันต์ วัฒนศักดิ์

Contents

Volume 72 Number 3 July - September 2022

Original Article

467 Comparison of the 3D Accuracy between Digital and Conventional Impressions in Full Arch Multi-unit Implants at Implant and Abutment Levels: An *In-Vitro* Study

Ataya Chinwongs

Pravej Serichetapongse

478 Evaluation of Toothbrush Wear and the Effect on Enamel Surface of Primary Teeth using a Toothbrushing Machine *In Vitro*

Twongsin Prucksasuwan

Prim Auychai

Yossakit Lochaiwatana

Arune Laiteerapong

490 Cytotoxicity Evaluation of Herbal Mouthwashes Containing Ginseng Extract on Human Gingival Fibroblast-like Cells: An *In Vitro* Study

Nattanun Tansiri

Titikan Ruensukon

Warat Hatsadaloi

Vorapat Trachoo

Yossakit Lochaiwatana

Arune Laiteerapong

500 Evaluation of Dens Evaginatus by CBCT and Exome sequencing in Thai Population

Suchaya Nimkulrat

Anchana Panichuttra

Chootima Ratisoontorn

Thantrira Pornaveetus

509 The Comparison of Void in Different Types and Film Thickness of Resin Cements under Scanning Electron Microscope

Naluemol Sriprsert

Issarawan Boonsiri

Wasan Vatanasak

Front cover image:

adapted from Polyether impression material and Digital impression.

(see Chinwongs and Serichetapongse. page 471 for detail)

Masticatory Muscle Responses to Orthodontic Bite-raising Appliances

Passakorn Wasinwasukul¹, Udom Thongudomporn¹

¹Department of preventive dentistry, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand

Abstract

A variety of bite-raising appliances are involved in contemporary orthodontic treatment depending on an individual's malocclusion and the objectives of treatment. The appliances can affect the dentoskeletal and neuromuscular system over the short and long terms. Most of the bite-raising appliances do not change the immediate muscle response at rest, but temporarily decreases the activity during maximum clenching. The activity returns to the previous state after a period of treatment in long-term observation.

The purpose of this article is to compare similarities and contrast differences between various types of orthodontic bite-raising appliances, both in the short and long term. Factors affecting the masticatory muscle responses included vertical dimension, number of occlusal contacts, jaw relocation, material, and wearing duration. Moreover, suggestions for further studies are also discussed.

Keywords: Bite-raising appliance, Masticatory muscles, Muscle activity

Received Date: Jan 24, 2022

Revised Date: Feb 21, 2022

Accepted Date: Apr 18, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.43

Correspondence to:

Passakorn Wasinwasukul, Orthodontic section, Department of preventive dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, Thailand, 90110 Telephone: +66804410048 E-mail: passakorn.ws@gmail.com

Introduction

During dental treatment it is often necessary to raise the patient's bite for therapeutic purposes or for assisting the main treatment purpose. Bite-raising can be temporary such as during use of bite raising appliances in orthodontic treatment, or permanent when patients who need full mouth rehabilitation require an increase in the vertical dimension. Some studies have suggested that bite-raising inevitably affects the craniofacial neuromuscular system including masticatory muscles¹ and temporomandibular joints (TMJ).^{2,3}

Orthodontically, bite-raising has been applied to several situations. Examples include the use of anterior

bite-raising appliances to alleviate a deep bite, the application of posterior bite-raising appliances to assist the correction of a crossbite or to intrude posterior teeth, the use of splint-like bite-raising appliances to re-program masticatory muscles in cases with jaw deviation due to prolonged dental interference, and the use of functional appliances to accelerate the forward growth of the mandible in combination with an increase in the skeletal vertical dimension. Since knowledge about the responses of the craniofacial neuromuscular system to bite-raising in orthodontic treatment is scattered around the world, this article aims to collect and review the evidence of previous studies concerning these

masticatory muscle responses to several methods of orthodontic bite-raising. Suggestions for further studies are discussed.

Immediate responses

Normally, at the physiologic rest position, the masticatory muscles are in a state of minimal contraction⁴. When a bite-raising appliance is inserted, there is an insignificant change of muscle activity at rest throughout the treatment.^{1,5} However, masticatory muscle activity is significantly reduced when functioning with a bite-raising appliance. This is because the forced jaw-opening reduces signal sending from perioral-mechanoreceptors to the central nervous system and activation area in the brain, called neuroplasticity.⁶ The reduction of proprioceptive signaling down-regulates the activity of the masseter and temporalis muscles. Hence, muscle activity decreases during maximum clenching. The objective and subjective masticatory functions and efficiency also decrease when forced bite-opening is applied.^{7,8} It can be concluded that the limited forced bite-opening of 2-4 mm within the freeway space does not change the muscle activity at rest but decreases the activity of the masseter and temporalis muscles when there is maximal clenching.

Adaptive responses

After bite-opening, the stomatognathic system accommodates the new oral environment and reestablishes the normal function.⁹ A study in rats found that the responsiveness of the masseter muscle spindle afferent to the mesencephalic trigeminal nucleus decreased during two to four weeks of continuous bite-raising appliance wearing and returned to normal after six weeks of appliance wearing.¹⁰ In another study, similarly to neuroplasticity, the muscle activity temporally decreased, but reverted to the previous condition after two years of follow-up.¹¹ Unlike bite-raising for prosthodontics or treatment for temporomandibular disorders (TMDs), bite-raising during orthodontic treatment is usually temporary, ranging from a few weeks to a few months. Studies found that the muscle activity was insignificantly different from the start of treatment to after six months with a removable bite plane¹² or eight

months with a fixed appliance.¹ This suggests that orthodontic bite-raising appliances also cause immediate and adaptive responses similar to other appliances that raise the bite.

Reduction of muscle size correlates with muscle activity¹³. Human studies found a reduction of muscle thickness after a long-term forced bite opening.^{14,15} If that is the case, long-term wearing of interocclusal appliances to treat myogenous TMDs and bruxism may be a permanent cure. However, a study reported an insignificant difference in muscle thickness and activity in TMD patients compared to a control group.¹⁶ A decrease in muscle thickness and activity was also found in patients with bruxism after treatment with interocclusal appliances.¹⁷ More evidence may be needed to support these findings.

Individual anatomical and physiological responses, intensity, and duration of the stimulus affect the adaptation.¹⁸ Sometimes adaptive responses do not occur, leading to physio-pathological conditions of the stomatognathic system. In the short term, muscle tenderness, mastication or phonetic problems occur, but these problems often disappear quickly and therefore go unreported.^{12,19}

Factors affecting masticatory muscle responses

Orthodontic bite-raising appliances, basically, modify the oral environment then distress the masticatory muscle responses. The vertical dimensional change, the number of occlusal contacts, the materials of the appliance, relocation of the mandible, and wearing duration are all together confounding factors that affect the outcomes as shown in Figure 1.

The amount of vertical dimensional change

The amount of jaw opening relates with the muscle stretching and its activity. A previous experiment showed a progressive decrease of the anterior temporalis and masseter muscle activity whilst there was an increase of intermolar distance.²⁰ It can be explained by the stretching of the masticatory muscles, which was observed in previous animal studies.^{10,21} The activity reaches the minimum anterior interocclusal distance at 15-20 mm where the highest cross-bridge between thick and thin sarcomere

myofilaments was established, then excitation can occur easily.^{22,23} Overstretching of a muscle beyond its optimum length could reduce the tension of the muscle according to the stretch reflex of the muscle.²² A previous experiment showed increasing muscle activity after opening to the maximum mouth opening.²²

Number of occlusal contacts

Bite raising appliances for orthodontic purposes, on either the anterior or posterior bite plane, allow only a few teeth to occlude on the appliance. Therefore, the effect on the cranio-neuromuscular system may be somewhat different from the use of a full coverage splint. Higher muscle activity of masseter and anterior temporalis muscles was observed in patients wearing a splint than those with an anterior bite plane⁵, but there was no significant change in both rest positions and maximum clenching after six months of treatment with an hard occlusal splint compared to those without the appliance.¹² The greater muscle activity was expected by the higher number of occlusal contacts on the occlusal splint compared to those with an anterior bite plane, which only occluded at the anterior teeth. A higher diversity of mechanoreceptors might be expected in the full coverage occlusal splint administration.

It might be concluded that appliances which open the jaw but reduce the number of occlusal contacts, such as for anterior bite-raising, posterior bite-raising and some type of functional appliances, affect the muscle responses in the same way. It temporarily decreases the masticatory muscle activity during maximum clenching. In contrast, the muscle activity is not different nor does it increase after treatment with occlusal splints. The significant point is that it is due to the number of tooth contact areas and mechanoreceptors, which are found to have higher responsiveness in the stomatognathic system. Once the number of occluded teeth are decreased due to the intentionally applied appliances, it causes unstable occlusion²⁴ and reduces the sensory input of receptors in masticatory muscles and results in the immediate change of neuromuscular responses.¹⁴ Thus, the masticatory

performance was reduced because of the direct relationship between muscle activity and its performance.²⁵ However, after a certain amount of time given, the muscles then regain their activity at the new position as a result of treatment. Remarkably, a number of earlier long-term studies found no statistically significant difference between pre and post treatment.^{11,26}

The effect of the number of occlusal contacts on muscle response is likely to be more than the vertical dimension. In some situations, bite-raising appliances both increases the vertical dimension but still performs a great number of occlusal contacts such as occlusal splints showing no significant difference between having or not having an appliance or among those with three and six millimeters of interocclusal distance.²⁷ However, another study presented a gradual decrease in masseter muscle activity as the vertical interocclusal distances increased.²⁸ This effect may be advantageous to treat TMDs. An interocclusal appliance has been shown to relieve almost all symptoms in patients with joint sound and muscle soreness within two weeks of treatment.³

Appliance's materials

The types of materials used for bite-raising may affect the responses. The muscle activity decreased more with the use of hard occlusal appliances whereas soft occlusal splints produce a slight increase in masseter and temporalis muscle activity at maximal intercuspation.^{29,30} The combination of those hard and soft materials, also known as dual laminated or bilaminar materials, present inner soft and outer hard material and are available in a range of different thickness. It has been proposed as an alternative occlusal splint for sleep bruxism cases.³¹ In this situation, data about the effect on muscle activity by a dual laminate occlusal splint is inadequate. However, another case report also showed an increase of muscle activity after treatment.³² Regarding a study with healthy participants via a hard material of occlusal splint, muscle activity reduction has been found and a larger number of feedback signaling outputs from periodontal ligament,

muscle, and TMJ might be expected with maximum clenching.³⁰ Therefore, the protective mechanisms of perioral proprioceptive receptors are initiated to help people beware of tooth fracture when biting on a rigid substance.^{30,33} Soft materials, on the other hand, distribute a masticatory effort and are presumably more comfortable to bite on.³⁰ Hence, the muscle activity might increase with soft materials.

Relocation of the mandible

Another type of appliance that combines a forward jaw positioning with an increase in the bite is a functional appliance. A study of an activator showed the combination effects of vertical and sagittal mandibular changes. It revealed no immediate change in muscle activity at rest, but significantly decreased during maximum biting, especially in the temporalis muscle more than the masseter muscle.³⁴ Long term studies presented decreasing temporalis and masseter muscle activity during maximum clenching¹¹, but they gradually returned to their previous status and found no significant difference for masticatory muscle activity with a good neuromuscular equilibrium after one or two years of treatment with functional appliances in children.^{35,36} It was suggested that the balance during masticatory muscle contraction is more favorable for long stable results in both orthopedic-functional treatment and orthodontic treatment.^{37,38}

The jaw position might be another interesting factor. A prior study showed greater temporalis and masseter muscle activity at the rest position in skeletal Class III patients than for those in Class I and Class II. During clenching, the skeletal Class II and Class III groups presented lower activity compared to Class I.³⁹ To support this, the musculoskeletal axis and its actual direction may influence and affect the performance of these elevator muscles. Significant change in muscle activity was found due to jaw reposition such as orthognathic surgery^{40,41} and growth redirection with functional appliances.^{14,34,36,42} Regarding the non-conclusive relationship between sagittal malocclusion and muscle activity, it is possible that the changes in muscle activity happened due to new circumoral environmental changes and required time for adaptation.

An additional effect of the soft material on top of the jaw relocation could be seen in a study of a functional appliance made from polyurethane for children. It presented decreasing anterior temporalis and masseter muscle activity during clenching after eight months.⁴³ Although it was not an exact immediate response, the results from this study claims that there were combined effects with the relocation of the mandible, normal developmental growth, vertical bite-raising components, and materials stiffness.

Wearing duration

Recently, the use of fixed bite-raising has become popular. Unlike intermittent wearing of removable bite planes, fixed bite-raising provides a continuous bite opening, which may pose different responses to the neuromuscular system. An electromyographic study showed no difference in muscle activity at rest, but significant immediate reduction in the activity of the masseter and anterior temporalis muscles while clenching and mastication after placing of the light-cured orthodontic band cement on the palatal cusp of both maxillary molars in 30 adults with normal occlusion.⁴⁴ It was mentioned a physiologic protective mechanism, which was the result of mandible instability due to the occlusal change. The elevator muscles contribute to maintain the occlusion by reducing its activity to avoid damage to circumoral structures.²⁴ Moreover, the masticatory function is also affected by the bite-raising appliance: for example, the immediate reduction of both objective and subjective masticatory functions after bite-raising with orthodontic band cement⁷ have been investigated and reported. After a week of treatment with clear acrylic resin fixed on posterior teeth, no difference in muscle activity in healthy participants was found.¹⁹ It may imply that there was an adaptation of the muscle's response. An ultrasonographic study was performed after treatment with a removable posterior bite plane where no difference in muscle thickness was found, and where there was the same function between treatment time and the control group.^{45,46} However, the effects of bite-raising appliance over an extended period and the difference between wearing duration are inconclusive.

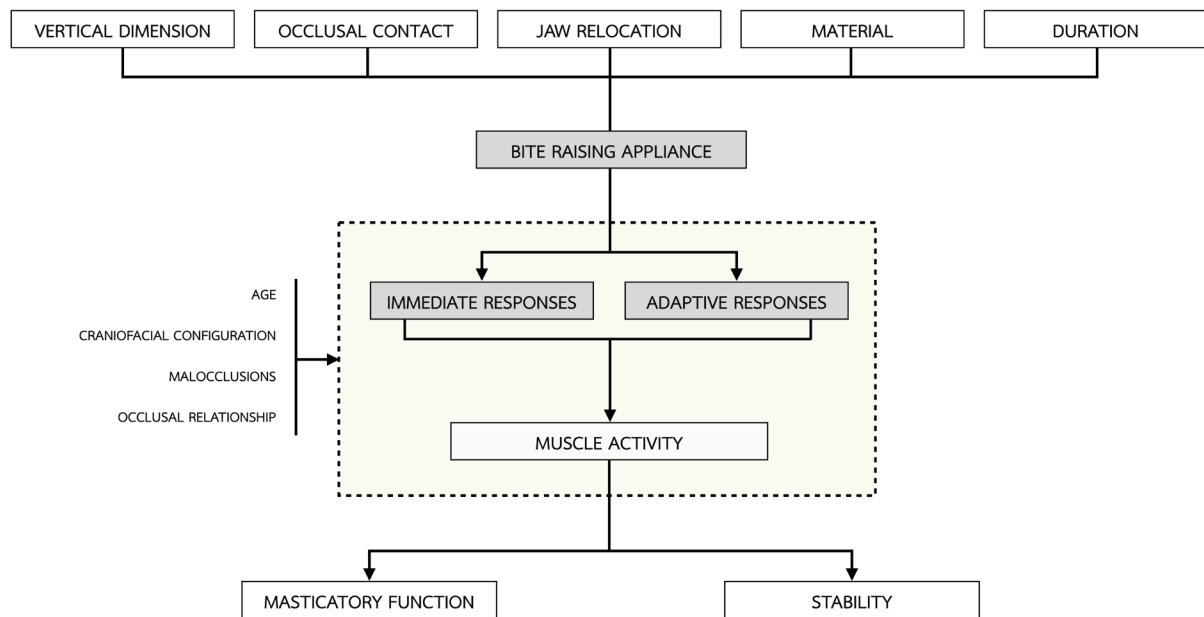


Figure 1 Factors related to masticatory muscle responses on bite-raising appliances

Conclusions

Due to various publications and inconclusive data about the effects of orthodontic bite-raising appliances on masticatory muscle response, it can be inferred that most of the bite-raising appliances do not change the muscle activity at rest but temporarily decrease it during clenching. In addition, adaptation occurred over long-term treatment.

The vertical dimension, number of occlusal contacts, relocation of the mandible, and material types are together confounding factors which affect the outcomes. In addition, age⁴⁷, craniofacial configuration^{48,49}, malocclusion, and occlusal relationships⁵⁰ might also influence the response as well. These factors may co-operate and should be controlled in further studies if the main effects of these appliances are to be investigated. However, further well designed randomized controlled trial studies should be considered with factors such as the difference between anterior and posterior disocclusion, the effects of material hardness in each appliance design, and wearing duration, including the differences between fixed and removable appliances.

Disclosure statement: The authors declare that they have no conflict of interests.

Ethics approval and consent to participate: Ethical approval was not required.

References

1. Akarsu-Guven B, Dds A, Dds S. Evaluation of the Effects of Fixed Anterior Biteplane Treatment on the Dental and Skeletal Structures and Masticatory Muscles in Patients with Deep Bite. *Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2010;34:10–22.
2. Cardelli P, Massaro P, Lattari M, Fiorito R, Ottria L, Barlattani A. The bite plane in temporomandibular joint disorders therapy. *Gazz Med Ital* 2004;163:227–31.
3. Al-Saad M, Akeel RF. EMG and pain severity evaluation in patients with TMD using two different occlusal devices. *Int J Prosthodont* 2001;14(1):15–21.
4. The Glossary of Prosthodontic Terms. *J Prosthet Dent* 2017; 117(5):C1-e105.
5. Dahlström L, Haraldson T. Immediate electromyographic response in masseter and temporal muscles to bite plates and stabilization splints. *Eur J Oral Sci* 1989;97(6):533–8.
6. Lai A, Korgaonkar M, Gomes L, Whittle T, Foster S, Williams L, *et al.* fMRI Study on Human Subjects with Sudden Occlusal Vertical Dimension Increase. *Jacobs j dent res* 2015;2:20.
7. Changsiripun C, Pativetpinyo D. Masticatory function after bite-raising with light-cured orthodontic band cement in healthy adults. *Angle Orthod* 2020;90(2):263–8.
8. Satokawa Y, Minami I, Wakabayashi N. Short-term changes in chewing efficiency and subjective evaluation in normal dentate subjects after insertion of oral appliances with an occlusal flat table. *J Oral Rehabil* 2018;45(2):116–25.
9. Grünheid T, Langenbach GEJ, Korfage JAM, Zentner A, van Eijden TMGJ. The adaptive response of jaw muscles to varying functional demands. *Eur J Orthod* 2009;31(6):596–612.

10. Yabushita T, Zeredo JL, Fujita K, Toda K, Soma K. Functional adaptability of jaw-muscle spindles after bite-raising. *J Dent Res* 2006;85(9):849–53.
11. Sood S, Kharbanda OP, Duggal R, Sood M, Gulati S. Neuromuscular adaptations with flexible fixed functional appliance—a 2-year follow-up study. *J Orofac Orthop* 2011;72(6):434–45.
12. Dahlström L, Haraldson T. Bite plates and stabilization splints in mandibular dysfunction: A clinical and electromyographic comparison. *Acta Odontol Scand* 1985;43(2):109–14.
13. Georgiaki I, Tortopidis D, Garefis P, Kiliaridis S. Ultrasonographic thickness and electromyographic activity of masseter muscle of human females. *J Oral Rehabil* 2007;34(2):121–8.
14. Antonarakis GS, Kiliaridis S. Predictive value of masseter muscle thickness and bite force on Class II functional appliance treatment: a prospective controlled study. *Eur J Orthod* 2015;37(6):570–7.
15. Kiliaridis S, Mills C, Antonarakis G. Masseter muscle thickness as a predictive variable in treatment outcome of the twin-block appliance and masseteric thickness changes during treatment: Masseter muscle thickness and twin-block treatment. *Orthod Craniofac Res* 2010;13(4):203–13.
16. Strini PJSA, Strini PJSA, Barbosa T de S, Gavião MBD. Assessment of thickness and function of masticatory and cervical muscles in adults with and without temporomandibular disorders. *Arch Oral Biol* 2013;58(9):1100–8.
17. Akat B, Görür SA, Bayrak A, Eren H, Eres N, Erkan Y, *et al.* Ultrasonographic and electromyographic evaluation of three types of occlusal splints on masticatory muscle activity, thickness, and length in patients with bruxism. *CRANIO®* 2020;1–10.
18. Grünheid T, Langenbach GEJ, Korfage JAM, Zentner A, van Eijden TMGJ. The adaptive response of jaw muscles to varying functional demands. *Eur J Orthod* 2009;31(6):596–612.
19. Carlsson GE, Ingervall B, Kocak G. Effect of increasing vertical dimension on the masticatory system in subjects with natural teeth. *J Prosthet Dent* 1979;41(3):284–9.
20. Koc D, Dogan A, Bek B, Yucel M. Effects of increasing the jaw opening on the maximum bite force and electromyographic activities of jaw muscles. *J Oral Sci* 2012;7(1):14–9.
21. Yabushita T, Zeredo JL, Toda K, Soma K. Role of Occlusal Vertical Dimension in Spindle Function. *J Dent Res* 2005;84(3):245–9.
22. Manns A, Miralles R, Palazzi C. EMG, bite force, and elongation of the masseter muscle under isometric voluntary contractions and variations of vertical dimension. *J Prosthet Dent* 1979;42(6):674–82.
23. Nordstrom SH, Bishop M, Yemm R. The effect of jaw opening on the sarcomere length of the masseter and temporal muscles of the rat. *Arch Oral Biol* 1974;19(2):151–5.
24. Jiménez ID. Dental stability and maximal masticatory muscle activity. *J Oral Rehabil* 1987;14(6):591–8.
25. Felício CM de, Couto GA do, Ferreira CLP, Mestriner Junior W. Reliability of masticatory efficiency with beads and correlation with the muscle activity. *Pró-Fono R Atual Cient* 2008;20(4):225–30.
26. Cuevas MJ, Cacho A, Alarcón JA, Martín C. Longitudinal evaluation of jaw muscle activity and mandibular kinematics in young patients with Class II malocclusion treated with the Teuscher activator. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2013;18(3):e497–504.
27. Pita MS, Ribeiro AB, Garcia AR, Pedrazzi V, Zuim PRJ. Effect of occlusal splint thickness on electrical masticatory muscle activity during rest and clenching. *Braz oral res* 2011;25(6):506–11.
28. Suvinen T, Reade P, Könönen M, Kempainen P. Vertical jaw separation and masseter muscle electromyographic activity: a comparative study between asymptomatic controls & patients with temporomandibular pain & dysfunction. *J Oral Rehabil* 2003;30(8):765–72.
29. Okeson JP. The effects of hard and soft occlusal splints on nocturnal bruxism. *J Am Dent Assoc* 1987;114(6):788–91.
30. Al Quran FAM, Lyons MF. The immediate effect of hard and soft splints on the EMG activity of the masseter and temporalis muscles. *J Oral Rehabil* 1999;26(7):559–63.
31. Longridge NN, Milosevic A. The bilaminar (Dual-Laminate) protective night guard. *Dental Update* 2017;44(7):648–54.
32. Karakis D, Demirdag ED. Adjustment of Occlusal Splint with Synchronized T-Scan III Digital Occlusal Analysis System and Bio-EMG III in a Patient with Sleep Bruxism. *J Adv Oral Res* 2021;12(1):170–5.
33. Paphangkorakit J, Osborn JW. Effects on human maximum bite force of biting on a softer or harder object. *Arch Oral Biol* 1998;43(11):833–9.
34. Tabe H, Ueda HM, Kato M, Nagaoka K, Nakashima Y, Matsumoto E, *et al.* Influence of functional appliances on masticatory muscle activity. *Angle Orthod* 2005;75(4):616–24.
35. Di Palma E, Tepedino M, Chimenti C, Tartaglia GM, Sforza C. Effects of the functional orthopaedic therapy on masticatory muscles activity. *J Clin Exp Dent* 2017;9(7):e886–91.
36. Castrolorio T, Talpone F, Deregibus A, Piancino MG, Bracco P. Effects of a functional appliance on masticatory muscles of young adults suffering from muscle-related temporomandibular disorders. *J Oral Rehabil* 2004;31(6):524–9.
37. Ferrario VF, Marciandi PV, Tartaglia GM, Dellavia C, Sforza C. Neuromuscular evaluation of post-orthodontic stability: an experimental protocol. *Int J Adult Orthodon Orthognath Surg* 2002;17(4):307–13.
38. Ferrario VF, Sforza C, Miani A, D'Addona A, Barbini E. Electromyographic activity of human masticatory muscles in normal young people. Statistical evaluation of reference values for clinical applications. *J Oral Rehabil* 1993;20(3):271–80.
39. Miralles R, Hevia R, Contreras L, Carvajal R, Bull R, Manns A.

Patterns of electromyographic activity in subjects with different skeletal facial types. *Angle Orthod* 1991;61(4):277–84.

40. Celakil D, Ozdemir F, Eraydin F, Celakil T. Effect of orthognathic surgery on masticatory performance and muscle activity in skeletal Class III patients. *CRANIO*® 2018;36(3):174–80.

41. Kim KA, Park HS, Lee SY, Kim SJ, Baek SH, Ahn HW. Short-term changes in muscle activity and jaw movement patterns after orthognathic surgery in skeletal Class III patients with facial asymmetry. *Korean J Orthod* 2019;49(4):254–64.

42. Sessle BJ, Woodside DG, Bourque P, Gurza S, Powell G, Voudouris J, *et al.* Effect of functional appliances on jaw muscle activity. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990;98(3):222–30.

43. Uysal T, Yagci A, Kara S, Okkesim S. Influence of Pre-Orthodontic Trainer treatment on the perioral and masticatory muscles in patients with Class II division 1 malocclusion. *Eur J Orthod* 2012;34(1):96–101.

44. Pativetpinyo D, Suprongsinchai W, Changsiripun C. Immediate effects of temporary bite-raising with light-cured orthodontic band cement on the electromyographic response of masticatory muscles. *J Appl Oral Sci* 2018;26:e20170214.

45. Lione R, Kiliaridis S, Noviello A, Franchi L, Antonarakis GS,

Cozza P. Evaluation of masseter muscles in relation to treatment with removable bite-blocks in dolichofacial growing subjects: A prospective controlled study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2017;151(6):1058–64.

46. Castelo PM, Gavião MBD, Pereira LJ, Bonjardim LR. Evaluation of changes in muscle thickness, bite force and facial asymmetry during early treatment of functional posterior crossbite. *J Clin Pediatr Dent* 2010;34(4):369–74.

47. Cecilio FA, Regalo SCH, Palinkas M, Issa JPM, Siéssere S, Hallak JEC, *et al.* Ageing and surface EMG activity patterns of masticatory muscles. *J Oral Rehabil* 2010;37(4):248–55.

48. Gomes SGF, Custodio W, Faot F, Del Bel Cury AA, Garcia RCMR. Masticatory features, EMG activity and muscle effort of subjects with different facial patterns: EFFECT OF FACIAL TYPE ON MASTICATORY PARAMETERS. *J Oral Rehabil* 2010;37(11):813–9.

49. Ingervall B, Thilander B. Relation between facial morphology and activity of the masticatory muscles. *J Oral Rehabil* 1974;1(2):131–47.

50. Wiecek A, Loster JE. Activity of the masticatory muscles and occlusal contacts in young adults with and without orthodontic treatment. *BMC Oral Health* 2015;15(1):116.

Efficacy of Drinking Green Tea in Antimicrobial Activity Following Surgical Removal of Impacted Lower Third Molars: A Randomized Controlled Trial

Boosana Kaboosaya¹, Kornchawan Attaudomporn², Kullapat Smuthkochorn², Rueangphit Hotrawaisaya²,
Ruchanee Ampornaramveth³

¹Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

²Students of Doctor of dental surgery (DDS) program, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

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

Abstract

The aim of this article is to evaluate the effect of drinking green tea on antimicrobial activity and wound healing after the surgical removal of an impacted mandibular third molar. The study was carried out as a randomized controlled clinical trial. Twenty patients with impacted mandibular third molars were randomly divided into two equal groups (drinking green tea or drinking water) after lower third molar removal. The same conditions were applied to all the patients, including the interrupted sutures were given by 4-0 silk in both groups. The outcome variables were soft tissue healing and number of colony-forming units per milliliter. There were 3 males and 17 females, in the age range of between 19-31 years. The mean of soft tissue healing index was higher for the green tea group at all times but did not show statistical significance. The mean of microbial loads was lower in the green tea group on a postoperative day 7 (10^{-5} CFU/mL in concentration). The present study found that drinking green tea can decrease the bacterial count in the suture and may improve wound healing after the surgical removal of lower third molars.

Keywords : Bacterial count, Green tea, Surgical removal, Third molar, Wound healing

Received Date: Sep 27, 2021

Revised Date: Oct 26, 2021

Accepted Date: Feb 4, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.44

Correspondence to:

Boosana Kaboosaya, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, 34 Henri Dunant Road, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand. E-mail: Boosana.k@chula.ac.th Tel: 02-218-8581 Fax: 02-218-8581

Introduction

Surgical removal of an impacted third molar is one of the most common procedures carried out in oral and maxillofacial surgery. Pain, swelling, trismus, or anatomical variation can make the maintenance of oral hygiene difficult, which increases the risk of infection.¹ A previous article mentioned that microorganisms that were normally sequestered at the tissue surface could affect infection

factors if the tissue surface was injured.² Since there has been continuous efforts to reduce these complications, various local antiseptic and antimicrobial medications like chlorhexidine, tetracycline, and metronidazole have been used.³

Currently, natural products have been significantly used in modern medicine worldwide. Naturally derived

substances are believed to have a low incidence of severe adverse reactions and are inexpensive compared to standard therapies.⁴ Research has shown that natural active compounds have properties of modulating the host inflammatory response and of enhancing socket wound healing.⁵ Drinking one cup of green tea every day is associated with decreasing the mean of the periodontal pocket, attachment loss, and bleeding on probing.⁶ The flavonoids are the most important tea polyphenols, and the major components of flavonoids are the catechins. Catechins have antibacterial action and have shown utility in the treatment of oral and topical infection.⁷ Studies have shown that the green tea polyphenolic catechins, in particular (–)-epigallocatechin gallate (EGCG) and (–)-epicatechin gallate (ECG), can inhibit the growth of a wide range of gram-positive and gram-negative bacterial species with moderate potency.⁸

Previous research revealed that green tea has an indirect antibacterial effect by the inhibition of glucosyl transferase, which leads to limiting the biosynthesis of sticky glucan. Human and bacterial amylase were inhibited by catechin in dried tea leaves.⁹ Green tea has been considered to have the ability to modulate inflammation. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) influences multiple aspects of innate and adaptive immunity, including ameliorates mucosal inflammation by inhibiting a pro-inflammatory cytokine (TNF- α).¹⁰ It has been reported that green tea possesses an anti-inflammatory effect against the denaturation of protein *in vitro*.¹¹

Numerous studies have reported the beneficial properties of green tea. As far as it is known, there have been no clinical trials investigating the effects of drinking green tea on oral surgical wound healing. Therefore, this study aimed to evaluate whether the consumption of green tea can influence microbial loads and wound healing following surgical removal of the lower third molars.

Material and Methods

Subjects and study design

This study was a prospective randomized, controlled trial. Block randomization, 20 participants were

randomly selected from the Oral and Maxillofacial Surgery Department between August 2019 and January 2020. The sample size was calculated based on the following formula from Nevas *et al.*¹²

$$n_1 = \frac{(z_{1-\frac{\alpha}{2}} + z_{1-\beta})^2 \left[\sigma_1^2 + \frac{\sigma_2^2}{r} \right]}{\Delta^2}$$

$$r = \frac{n_2}{n_1}, \Delta = \mu_1 - \mu_2$$

The sample size was augmented 20% to compensate for possible loss.

The research protocol complied with the guidelines of the Declaration of Helsinki and the Consolidated Standards of Reporting Trials.¹³ This project was approved by the Human Research Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University (HREC-DCU 2020-005). All procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2010.

The inclusion criteria included healthy patients (ASA I), ages between 18 to 35 years old, either male and female who required surgical removal of impacted lower third molars under local anesthesia. The participants presented partial bony impaction in vertical, mesioangular or horizontal angulation.

The exclusion criteria were patients who had signs or symptoms of any infection, had used chewing nuts, tobacco, or consumed alcohol within a month before the start date of the study. Also, females on contraceptives, pregnant women, or breastfeeding or individuals whose surgical procedure lasted longer than 45 minutes (from the first incision until the last suturing) were also excluded. Patients who had an allergy or intolerance to drinking green tea or consumed any tea products and used mouthwash during the experiment, including those patients who had incomplete follow up.

All the patients were informed about the study and written informed consent was obtained before enrollment. A panoramic radiograph was taken for the preoperative investigation to assess position (Pell and Gregory system) and angulation (Winter classification) versus the adjacent second molar. Participants were

randomly divided into two study groups. After the surgical removal of the impacted mandibular third molar, one group was given green tea to drink, another group was given drinking water.

Surgical procedure

A standardized operative procedure was performed similarly under strict aseptic precautions by one experienced oral and maxillofacial surgeon. After the anesthetic infiltration comprising 2% mepivacaine with 100,000 epinephrine, a mucoperiosteal flap was reflected, osteotomy and osteotomy using a tungsten carbide bur and micromotor were done. After surgical removal of the tooth, the socket was thoroughly irrigated with 0.9% normal saline, and then the flap was closed and sutured with 4-0 silk. Oral analgesics (Paracetamol 500 mg; one tablet every 4-6 hours as needed or Ibuprofen 400 mg; one tablet every 4-6 hours per day as needed) were prescribed, and post-extraction instructions (verbal and written) were given. The patients were advised not to take any drugs, mouthwash, or tea other than those prescribed and to seek help from the operator in the first instance if they had a problem.

Preparation of drinking green tea

The researchers prepared seven bottles of drinking water (500 ml) and 14 tea bags (2 tea bags per 1 bottle of water) for each patient. The 4-gram green tea bags (Royal project highland tea, Chiang Mai, Thailand) were steeped into 500 ml of drinking water at a temperature of 4°C. The green tea bag remained in the drinking water for 9 hours.¹⁴

The daily tea preparation of 500 ml was repeated for seven consecutive days. The participants were advised to drink green tea or drink water 1/4 of the bottle continuously within 10 A.M., 1/2 of the bottle within noon, 3/4 of the bottle within 3 P.M., and finish within 5 P.M.

Soft tissue healing evaluation

All patients were recalled on postoperative days 3 and 7 for soft tissue healing assessment. The wound was assessed by a healing index (very poor = 1, poor = 2, good = 3, very good = 4, excellence = 5) based on the criteria given by Landry *et al.*¹⁵ The presence of dry socket or wound infection were also recorded. Two-blinded examiners had been calibrated before the study.

Measurement of antimicrobial activity

To determine whether drinking green tea alters plaque formation and the number of bacteria on black silk sutures in the mouth of volunteers. Five millimeters of black silk that was in contact with the patient's oral cavity was cut from the end-point of the suture and collected in Phosphate-buffered saline solution 10 milliliters for seven postoperative days. The sample was vortexed for five minutes, and sonicated at 500 Watt, 20 kHz, amp 20% for ten seconds. Then serial diluted to concentration 10⁻⁶, spread on Trypticase soy agar 1 milliliter at each concentration, and incubated at 37°C under 5% CO₂ atmosphere for 24 hours (Fig. 1). Subsequently, the number of colony-forming units (CFU) per milliliter was calculated by the number of colonies x dilution factor.

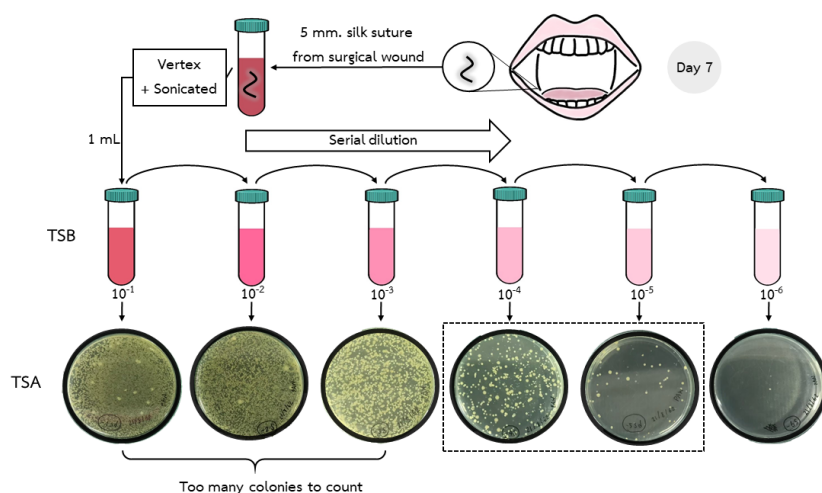


Figure 1 Serial dilution and plate count of viable colony-forming bacteria. (TSA = Trypticase soy agar, TSB = Trypticase soy broth)

Statistical analysis

Inter- and intra-observer reliability were evaluated using the intraclass correlation coefficient (ICC). Demographic data (age and gender) were analyzed using descriptive statistics. Quantitative variables were presented as mean \pm standard deviation, then using Chi-square for statistical analysis. The Kolmogorov-Smirnov normality tests were used to assess the normality of the data. Meanwhile, nonparametric data for the comparison between groups were analyzed with the Mann-Whitney test. Spearman's correlation coefficient was used to assess the correlation among variables. Statistical analyses were conducted with SPSS software (IBM, SPSS Statistics version 21).

Results

Twenty-one patients met the inclusion criteria, one of whom was excluded for not following the proper postoperative follow-up. Therefore, 20 patients were

included in the study: 3 males and 17 females. The mean age of the patients was 22.25 ± 2.3 years old (range 19-31 years). Nine of the third molars were on the left side and 11 on the right side. The ICC for the inter-observers agreement was 0.98, an intra-observer agreement was 0.99, demonstrating excellent reliability.

Following random assignment between green tea and non-green tea groups, there were classification differences but no statistically significant differences in the side of surgery, tooth position, and mean of operating time (Table. 1). However, the operating time had a significantly positive correlation with classification ($r_s = .542$, $p = .013$).

In both groups, the mean of the healing index was the lowest at postoperative day 3 and gradually increased over the following 14 days (Fig. 2). The mean of the healing index was higher for the green tea group for all the time points when compared with the non-green tea group but not statistically significant.

Table 1 Comparison of mandibular 3rd molars status and operating time between groups

Variables	Categories	Non-green tea	Green tea	p-value
Side of surgery (N)	Left 3 rd molar	5	4	.65 *
	Right 3 rd molar	5	6	
Classification (N)	I	5	1	.004 *
	II	4	9	
	III	1	0	
Tooth position (N)	A	5	6	.65 *
	B	5	4	
Operating time (mean \pm SD)	Minutes	26.67 \pm 9.5	25.56 \pm 6.7	.76 **

N = Number, SD = Standard deviation, * Chi-squares, ** one-way ANOVA

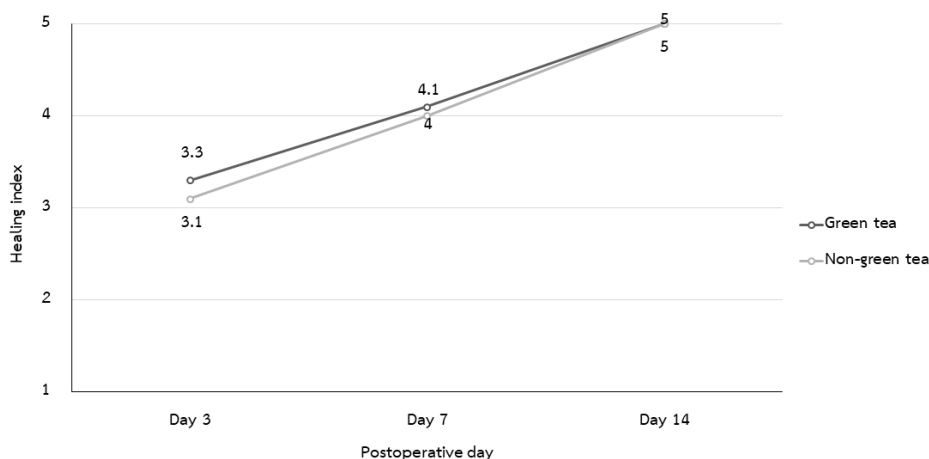


Figure 2 Mean value of postoperative healing index in green tea versus non-green tea group

According to the results, the mean of colony-forming units/mL on postoperative day 7 was considerably lower in the green tea group (34.5×10^5) than the non-green tea group (73.7×10^5) (Fig. 3). Additionally, the colony-forming units/mL had a significant correlation to soft tissue healing assessed seven days after the removal of the third molar ($r_s = -.649, p < .01$).

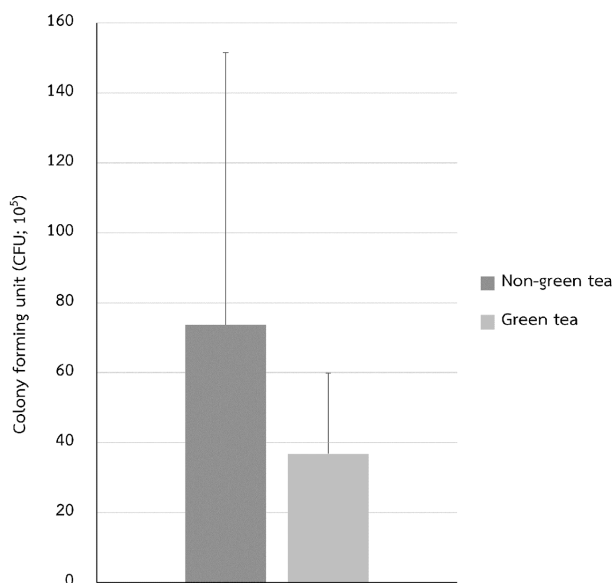


Figure 3 Mean value of bacterial count from black silk suture on postoperative day 7; Colony-forming unit (CFU)/mL

Discussion

The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of drinking green tea in antimicrobial activity and wound healing following the surgical removal of the lower third molars. The tea produced from the same plant, differ in terms of the manufacturing processes of the tea leaves and chemical compositions. Green tea leaves are heated rapidly by steaming or frying to prevent polyphenol oxidation (unfermented) while oolong tea (semi-fermented) and black tea (fermented) leaves are dried, rolled and crushed, which promotes oxidation.¹⁶ Thereby, green tea has far more active catechins than other teas.¹⁷

The methods of preparing the beverage vary throughout the different parts of the world. Green tea manifested time dependence and temperature sensitivity. Prolong cold steeping of green tea exhibits better antioxidant

activity compared to other methods.¹⁸ For this research, green tea was also brewed by cold infusion. This innovative method achieved bioactive compounds, such as epigallocatechin gallate, with the highest values, about double in hot infusion.¹⁴ Likewise, the cold brew is particularly appropriate for tropical countries and hot summer months due to a more simple preparation and easier consumption than water. All participants were regularly scheduled to consume 1/4 of a bottle to eliminate the bias due to additional antimicrobial effects from frequency and exposure time to green tea.

This study, performed the surgery under the same experienced operator, using the same surgical technique, instruments, and a controlled aseptic environment. Although the classification was a statistically significant difference, there was no statistically significant difference in the operating time between the green tea and the non-green tea group. It could have accounted for the similar condition of the surgical wounds.

The number of colony-forming units per milliliter was to indirectly evaluate the inflammatory reaction. The outcomes of this study demonstrated that the mean of microorganism count from silk suture on postoperative day 7 was lower in the green tea group. Although there were no statistically significant difference observed between the two groups ($p = 0.156$), the lower bacterial colonization for the green tea group validates its antimicrobial effects in the oral cavity, as founded by Thomas A *et al.*¹⁹ A recent experiment found 0.5% green tea mouthwash against *S. mutans* was significantly better than 0.2% CHX mouthwash. Green tea catechins may help to maintain the normal plaque pH, which in turn is an unfavorable condition for *S. mutans* to colonize and multiply.²⁰

During wound healing, it has been hypothesized that fibroblasts play an essential role in tissue healing. Although the difference in soft tissue healing in this study was not significant, it was shown that the soft tissue healing in the green tea group was more significant than the non-green tea group on both postoperative day 3 ($p = 0.435$) and day 7 ($p = 0.69$). These findings were supported by

the previous study that applied topical green tea extract over the wound. The histological results showed that the granulation tissue in the experiment group contained less inflammatory cells, more fibroblast growth, and more blood capillaries. It was concluded that green tea extract shortens the inflammatory period by increasing the rate of proliferation, angiogenesis, and collagen formation phases to enhance wound healing.²¹

Our finding that the mean value of bacterial count (CFU/mL) on a postoperative day 7 has shown high standard error. The microbial concentration might be affected by the initial inoculation and the length of the lag phase (the period between the introduction of a micro-organism into the culture medium in which the bacteria have not yet started dividing).²² By this assumption, the growth rate variations were caused by a lack of control over these time conditions. Although our research methodology stipulated that the sutures were brought for serial dilution immediately after being collected from the patients, the exact length of the lag phase was not determined. Therefore, this might be the cause of this discrepancy.

In this study, dry sockets or other severe complications were not observed during the follow-up period. However, this experiment required a great deal of cooperation from all the participants, with not only the preparation of drinking green tea by themselves but consequently, several visits are needed during the follow-up period. Thus, the lack of participants was the limitation of this study. Because of the small sample size, it was challenging to identify significant relationships from data.

Conclusion

Within this limitation, we concluded that drinking green tea may display an advantage in clinical performance in oral wound healing. The anti-bacterial properties resulted in the remarkable depletion of bacterial loads in silk sutures. Green tea may reduce local oral mucosa inflammation and facilitate wound healing with no observed side effects. This data provides the first clinical scientific support for the effectiveness of drinking green tea in wound healing

after third molar surgery. However, to better understand the effect of green tea, more clinical trials with larger samples are necessary.

Acknowledgments

The authors thank Dr. Nattakarn Povichit and Dr. Nattavee Wangpiriyapanish for their assistance throughout all the aspects of our study.

Financial support

This project was supported by the Dental Research Fund, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University.

Conflict of interests

The authors declare that they do not have any conflicts of interest.

References

1. Grossi GB, Maiorana C, Garramone RA, Borgonovo A, Creminelli L, Santoro F. Assessing postoperative discomfort after third molar surgery: a prospective study. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(5):901-17.
2. Guo S, DiPietro LA. Factors Affecting Wound Healing. *J Dent Res* 2010;89(3):219-29.
3. Alexander RE. Dental extraction wound management: a case against medicating post extraction sockets. *J Oral Maxillofac Surg* 2000;58(5):538-51.
4. Sivamani RK, Ma BR, Wehrli LN, Maverakis E. Phytochemicals and Naturally Derived Substances for Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2012;1(5):213-7.
5. Palaska I, Papatthanasiou E, Theoharides TC. Use of polyphenols in periodontal inflammation. *Eur J Pharmacol* 2013;720(1-3):77-83.
6. Kushiya M, Shimazaki Y, Murakami M, Yamashita Y. Relationship between intake of green tea and periodontal disease. *J Periodontol* 2009;80(3):372-7.
7. Sarin S, Marya C, Nagpal R, Oberoi SS, Rekhi A. Preliminary Clinical Evidence of the Antiplaque, Antigingivitis Efficacy of a Mouthwash Containing 2% Green Tea - A Randomised Clinical Trial. *Oral Health Prev Dent* 2015;13(3):197-203.
8. Taylor PW, Hamilton-Miller JMT, Stapleton PD. Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci Technol Bull* 2005;2:71-81.
9. Hamilton-Miller JMT. Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*). *J Med Microbiol* 2001;50(4):299-302.
10. Ran ZH, Chen C, Xiao SD. Epigallocatechin-3-gallate amelio-

rates rats colitis induced by acetic acid. *Biomed Pharmacother* 2008;62(3):189-196.

11. Chatterjee P, Chandra S, Dey P, Bhattacharya S. Evaluation of anti-inflammatory effects of green tea and black tea: A comparative *in vitro* study. *J Adv Pharm Technol Res* 2012;3(2):136-8.

12. Neves ALA, Komesu MC, Matteo MAS. Effects of Green Tea Use on Wound Healing. *Int J Morphol* 2010;28(3):905-10.

13. Schulz KF, Altman DG, Moher D, CONSORT Group. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMC Med* 2010;24(8):18.

14. Lantano C, Rinaldi M, Cavazza A, Barbanti D, Corradini C. Effects of alternative steeping methods on composition, antioxidant property and colour of green, black and oolong tea infusions. *J Food Sci Technol* 2015;52(12):8276-83.

15. Pasqualini D, Cocero N, Castella A, Mela L, Bracco P. Primary and secondary closure of the surgical wound after removal of impacted mandibular third molars: a comparative study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005;34(1):52-7.

16. Chow HH, Hakim IA. Pharmacokinetic and chemoprevention studies on tea in humans. *Pharmacol Res* 2011;64(2):105-112.

17. Hayat K, Iqbal H, Malik U, Bilal U, Mushtaq S. Tea and its consumption: benefits and risks. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015;55(7):939-54.

18. Hajiaghaalipour F, Sanusi J, Kanthimathi MS. Temperature and time of steeping affect the antioxidant properties of white, green, and black tea infusions. *J Food Sci* 2016;81(1):H246-54.

19. Thomas A, Thakur SR, Shetty SB. Antimicrobial efficacy of green tea and chlorhexidine mouth rinses against *Streptococcus mutans*, *Lactobacilli spp.* and *Candida albicans* in children with severe early childhood caries: A randomized clinical study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2016;34(1):65-70.

20. Kaur H, Jain S, Kaur A. Comparative evaluation of the antiplaque effectiveness of green tea catechin mouthwash with chlorhexidine gluconate. *J Indian Soc Periodontol* 2014;18(2):178-82.

21. Hajiaghaalipour F, Kanthimathi MS, Abdulla MA, Sanusi J. The Effect of *Camellia sinensis* on Wound Healing Potential in an Animal Model. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013(386734).

22. Bertrand RL. Lag phase is a dynamic, organized, adaptive, and evolvable period that prepares bacteria for cell division. *J Bacteriol* 2019;13(201):e00697-18.



บทวิทยากร

การวิเคราะห์ภาพถ่ายกะโหลกศีรษะด้านข้างในเด็กไทยอายุระหว่าง 7-10 ปี กลุ่มหนึ่ง Cephalometric Analyses in A Group of Thai Children Between 7-10 Years of Age

ศิพิมพ์ คงเอี่ยม¹, ทิพวรรณ ธาราพัฒนานนท์¹, สมกมล วณิชวัฒนะ¹

Siphim Khongaiam¹, Thipawan Tharapiwattananon¹, Somkamol Vanichvatana¹

¹ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

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

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อหาค่าปกติของโครงสร้างกระดูกใบหน้าและฟันในเด็กไทยในช่วงอายุ 7-10 ปี จากภาพถ่ายกะโหลกศีรษะด้านข้างในกลุ่มตัวอย่าง 84 คน อายุเฉลี่ย 9.97 ± 0.78 ปี เป็นเพศชาย 44 คน และเพศหญิง 40 คน โดยกลุ่มตัวอย่างที่เลือกจะต้องมี (1) ฟันกรามแท้ซี่ที่ 1 และฟันตัดซี่กลางแท้ขึ้นครบแล้วทุกซี่ (2) ไม่มีฟันหายตั้งแต่กำเนิดและไม่มีการสูญเสียฟันก่อนกำหนด (3) การสบฟันกรามแท้ซี่ที่ 1 แบบประเภทที่ 1 ตามเกณฑ์ของ Angle (Angle's classification I) และมีระยะเหลื่อมของฟันในแนวดิ่งและแนวระนาบปกติ (4) การเรียงตัวของฟันปกติ หรือมีฟันบิตซ้อนเกหรือมีช่องว่างได้ไม่เกิน 3 มิลลิเมตร (5) ไม่เคยได้รับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันมาก่อน ผลการศึกษาค่าเฉลี่ยเซฟาโลเมตริกในเด็กไทยที่ได้มีความแตกต่างจากการศึกษาอื่นที่เคยทำในผู้ใหญ่ไทยหรือทำในเด็กต่างประเทศ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการวิเคราะห์และวินิจฉัย การวางแผนการรักษา และการรักษาผู้ป่วยที่เป็นเด็กไทยในการรักษาทางทันตกรรมจัดฟัน

คำสำคัญ: การวิเคราะห์ภาพถ่ายกะโหลกศีรษะด้านข้าง, การสบฟันปกติ, ค่าเซฟาโลเมตริก, ชุดฟันผสม, เด็กไทย

Abstract

The objective of this study was to establish the cephalometric norms of skeletal and dental for Thai children between 7-10 years of age by means of various lateral cephalometric analyses of soft tissue. The materials of 84 children (44 boys, 40 girls) with an average age of 9.97 ± 0.78 years. The subjects were selected on the basis of (1) Presence of first molars and central incisors, (2) No congenital missing teeth and no premature loss of teeth, (3) Angle's Class I molar relationship, normal overbite and overjet, (4) Good dental alignment or having crowding or spacing not exceed 3 mm, (5) No previous history of orthodontic treatment. Results of this study showed that cephalometric standard means of Thai children are differ from previous studies, that were done in Thai adults or foreign children. The standard means from this study can be clinically applied to the diagnosis, treatment planning and treatment in young Thai orthodontic patients.

Keywords: Cephalometric radiography, Normal occlusion, Cephalometrics, Mixed dentition, Thai children

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

สมกมล วนิชวัฒนะ, ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 34 ถนนอังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 ประเทศไทย โทรศัพท์ 02-218-8909 อีเมล:somkamol.v@chula.ac.th

Correspondence to:

Somkamol Vanichvatana, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, 34 Henri-Dunant Road, Wangmai, Pathumwan, Bangkok, 10330 Thailand. Tel: 02-218-8909 E-mail: somkamol.v@chula.ac.th

บทนำ

ในการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันจำเป็นต้องใช้ภาพถ่ายรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้าง (Lateral cephalogram) ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญที่ช่วยวิเคราะห์ความผิดปกติ ความสัมพันธ์ส่วนต่าง ๆ ของโครงสร้างกะโหลกศีรษะและใบหน้า เพื่อการวินิจฉัยและเตรียมวางแผนการรักษาที่ถูกต้อง การศึกษาภาพถ่ายรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างในแต่ละบุคคลมีความแตกต่างกันไป เนื่องจากมีอิทธิพลของสิ่งต่าง ๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาการและการเจริญเติบโตของโครงสร้างใบหน้า ได้แก่ เชื้อชาติ พันธุกรรม สภาวะสิ่งแวดล้อม อายุ เพศ พยาธิสภาพ จะเห็นว่ามีอิทธิพลของสิ่งต่าง ๆ หลายประการที่เข้ามาเกี่ยวข้องกับพัฒนาการและการเจริญเติบโตของโครงสร้างใบหน้ารวมทั้งกะโหลกศีรษะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อชาติ จากการศึกษาในอดีตพบว่าค่ามาตรฐานของการวิเคราะห์ภาพถ่ายรังสีของกะโหลกศีรษะด้านข้างของชนชาติต่าง ๆ ในโลกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ¹ ไม่ว่าจะใช้วิธีวิเคราะห์โครงสร้างแบบใด แม้กระทั่งในชนชาติเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เองก็มีความแตกต่างกันในรูปร่างโครงสร้างใบหน้าและขากรรไกร² การวิเคราะห์ภาพรังสีกะโหลกศีรษะและใบหน้าด้านข้างสามารถกำหนดความเป็นไปได้ของการรักษาและสามารถสร้างมาตรฐานความสมบูรณ์ของเป้าหมายการรักษาได้ ทันตแพทย์จัดฟันจะเลือกเครื่องมือจัดฟันที่เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละรายโดยพิจารณาผลลัพธ์จากการวิเคราะห์ภาพรังสีกะโหลกศีรษะและใบหน้าด้านข้าง แต่ค่ามาตรฐาน (Standard) และค่าปกติ (Norms) ที่ใช้ส่วนมากเป็นการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ใช่คนไทย³⁻⁸ หรือการศึกษาลักษณะของคนไทยที่มีอยู่นั้นเป็นกลุ่มตัวอย่างที่เป็นผู้ใหญ่^{9,10} ในระหว่างที่เด็กมีการเจริญเติบโต ร่างกายทุกส่วนจะมีการเจริญเติบโตทำให้ขนาดของร่างกายใหญ่โตขึ้น ลักษณะโครงสร้างใบหน้าจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเช่นเดียวกัน ซึ่งในขณะที่ผู้ป่วยกำลังเจริญเติบโตพร้อมกับมีความสัมพันธ์ของโครงสร้างขากรรไกรที่ผิดปกติ ทันตแพทย์สามารถแก้ไขความผิดปกติของฟัน การสบฟัน

และความสัมพันธ์ของโครงสร้างขากรรไกร โดยการกระตุ้น ชะลอหรือปรับเปลี่ยนทิศทางการเติบโตของโครงสร้างขากรรไกร ดังนั้นการจัดฟันในวัยเด็กซึ่งเป็นชุดฟันผสมนั้นมิตัวอุปประสงค์เพื่อแก้ไขความผิดปกติที่ตรวจพบในระยะเริ่มต้นของฟันหรือการสบฟันนั้นเพื่อลดความรุนแรงและความซับซ้อนของทันตกรรมจัดฟันรักษาแก้ไขในระยะต่อมา

การใช้ค่ามาตรฐานในการเปรียบเทียบเพื่อใช้ในการบำบัดรักษาทางทันตกรรมจัดฟันควรจะต้องใช้ค่าเฉพาะอายุและเฉพาะเพศ⁵ ด้วยเหตุนี้จึงเป็นเหตุให้ผู้วิจัยต้องการศึกษาค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) ของค่ามุม และระยะทางต่าง ๆ (Angle and linear measurement) จากภาพรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างในเด็กไทยที่อาศัยอยู่ในเขตกรุงเทพมหานคร อายุ 7-10 ปี ซึ่งเป็นช่วงอายุที่เหมาะสมในการบำบัดรักษาทางทันตกรรมจัดฟันเพื่อการป้องกันและรักษาเบื้องต้น¹¹ เป็นประโยชน์ในด้านการนำผลการศึกษาที่ได้มาใช้ในการวินิจฉัยและวางแผนการรักษาแก่ผู้ป่วยที่ต้องการรับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันให้ได้ผลที่ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเป็นเด็กชายและเด็กหญิงที่เข้ามารับการรักษาที่ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในช่วงระยะเวลาหนึ่งที่ทำการศึกษา และเด็กนักเรียนชายและเด็กนักเรียนหญิงจากโรงเรียนในกรุงเทพมหานคร อายุ 7-10 ปี ตามปีปฏิทิน จำนวน 340 คน หลังจากตรวจช่องปากเพื่อคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่เข้าตามเกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างพบว่ามียุทธศาสตร์ที่ผ่านเกณฑ์คัดเลือกจำนวน 140 คน โดยมีจำนวนเด็กที่เข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ได้รับความยินยอมจากผู้ปกครอง จำนวน

84 คน เป็นเพศชาย 44 คน เป็นเพศหญิง 40 คน เกณฑ์ในการคัดกลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ 1) กลุ่มตัวอย่างจะต้องมีฟันกรามแท้ซี่ที่ 1 และฟันตัดซี่กลางแท้ขึ้นครบแล้วทุกซี่ 2) มีการสบฟันกรามแท้ซี่ที่ 1 แบบประเภทที่ 1 ตามเกณฑ์ของ Angle (Angle's classification I) ไม่มีการสบคร่อมฟันหน้า (Anterior crossbite) และสบคร่อมฟันหลังแบบไขว้ (Posterior crossbite) หรือสบแบบกรรไกร (Scissor bite) 3) มีฟันบิตซ้อนเกหรือมีช่องว่างได้ไม่เกิน 3 มิลลิเมตร¹² 4) ไม่มีฟันหายตั้งแต่กำเนิดและไม่มีการสูญเสียฟันก่อนกำหนด 5) มีระยะเหลื่อมของฟันในแนวตั้ง (Overbite) และแนวระนาบ (Overjet) ปกติ (อยู่ในระยะ 1-3 มิลลิเมตร)¹² 6) ไม่มีโรคทางระบบต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของโครงสร้างใบหน้า และไม่เคยได้รับอุบัติเหตุที่มีผลกระทบต่อกระดูกเจริญเติบโตของโครงสร้างใบหน้า 7) ไม่เคยได้รับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟัน และไม่เคยได้รับการถ่ายภาพรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างมาก่อน โครงการวิจัยนี้ได้รับการรับรองจริยธรรมการศึกษาวิจัยในมนุษย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หมายเลข HREC-DCU 2019-019

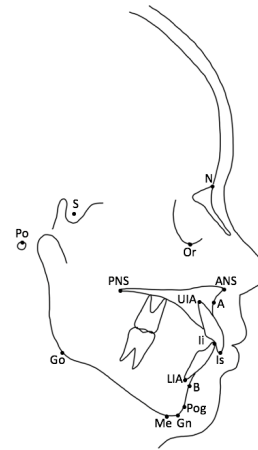
วิธีการถ่ายภาพรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้าง

กลุ่มตัวอย่างจะได้รับการถ่ายภาพรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างที่คลินิกรังสีวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ใช้เครื่องถ่ายภาพรังสีเอกซเรย์ปากดิจิทัลเครื่องเดียวกันตลอดการถ่ายภาพ (ยี่ห้อ Kodak รุ่น CS9000 บริษัท Trophy ผลิตภัณฑ์ประเทศฝรั่งเศส) ปรับแรงควบคุมให้อยู่ในวิธีการถ่ายภาพรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างความต่างศักย์ 74 กิโลโวลต์ (kVp) กระแสไฟฟ้า 10 มิลลิแอมแปร์ (mA) เวลาในการถ่าย 0.50 วินาที ระยะทางจากแหล่งกำเนิดรังสีไปยังตัวรับภาพเท่ากับ 5 ฟุต ใส่เสื้อกันรังสีให้กลุ่มตัวอย่างทุกครั้ง ที่ถ่ายภาพรังสี จัดตำแหน่งให้กลุ่มตัวอย่างยืนตรง คอตั้งตรง สบฟันที่ตำแหน่งฟันสบสนิท (Maximum intercuspation) และริมฝีปากอยู่ในท่าพัก (Rest position) ไม่เกร็งริมฝีปากและกล้ามเนื้อรอบปาก

การรวบรวมข้อมูล

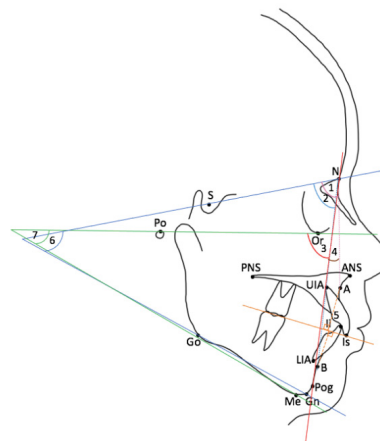
ทำโดยนำภาพถ่ายรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างของกลุ่มตัวอย่างที่พิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์เลเซอร์ (Kodak รุ่น Dryview 8900 Laser Imager) ใช้ฟิล์มขนาด 8 x 10 นิ้ว (ยี่ห้อ DRYVIEW Laser Imaging Film, บริษัท Carestream Health ผลิตภัณฑ์ประเทศสหรัฐอเมริกา) มาลอกลายละเอียดของโครงสร้างใบหน้าลงบนกระดาษลอกลาย กำหนดตำแหน่งหรือจุดกายวิภาค (Anatomical landmarks) ดังรูปที่ 1 ทำการวัดค่ามุมและระยะทางต่าง ๆ ของโครงสร้างกระดูกใบหน้าและฟันที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยมือ (Manual method) โดย

ผู้วิจัยคนเดียว ซึ่งทำการลอกลายและวัดค่าต่าง ๆ ภายใต้อาณัติของห้องเดิม และได้มีคำจำกัดความการวัดมุมและระยะทางของโครงสร้างกระดูกและฟันดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2



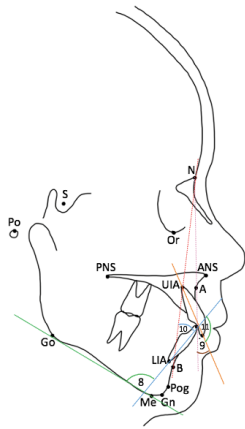
รูปที่ 1 รูปแสดงจุดอ้างอิงในส่วนของโครงสร้างกระดูกและฟันที่ใช้ในงานวิจัย
Figure 1 Cephalometric landmarks and points used in this the investigations

(References points: N, Nasion; Or, Orbitale; S, Sella; Po, Porion; ANS, Anterior nasal spine; PNS, Posterior nasal spine; A point, Subspinale; B point, Supramentale; Pog, Pogonion; Me, Menton; Gn, Gnathion; Go, Gonion; Is, Incision superius; UIA, Upper incisor apex; Li, Incision inferius; LIA, Lower incisor apex)



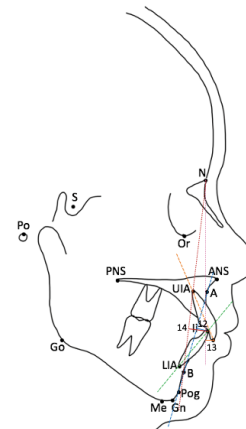
รูปที่ 2 รูปแสดงการวัดมุมและระยะของโครงสร้างกระดูกที่ใช้ในงานวิจัย
(1, SNA; 2, SNB; 3, NPog-FH; 4, ANB; 5, Wits; 6, SN-GoGn; 7, FMA)

Figure 2 Skeletal cephalometric angles and distances used in this the investigations



รูปที่ 3 รูปแสดงการวัดมุมของฟันที่ใช้ในงานวิจัย (8, IMPA; 9, UI-NA; 10, LI-NB; 11, UI-LI)

Figure 3 Dental cephalometric angles used in this the investigations



รูปที่ 4 รูปแสดงการวัดระยะของฟันที่ใช้ในงานวิจัย (12, LI-APog; 13, UI-NA; 14, LI-NB)

Figure 4 Dental cephalometric distances used in this the investigations

ตารางที่ 1 แสดงการวัดมุมและระยะของโครงสร้างกระดูกที่ใช้ในงานวิจัย (รูปที่ 2)

Table 1 Definition of skeletal cephalometric measurement in the present study

มุมและระยะทาง	คำจำกัดความ
SNA (องศา)	มุมที่เกิดจากระนาบ SN ทำกับระนาบ NA แสดงตำแหน่งของขากรรไกรบนในแนวหน้าหลังเทียบกับฐานกะโหลกศีรษะ
SNB (องศา)	มุมที่เกิดจากระนาบ SN ทำกับระนาบ NB แสดงตำแหน่งของขากรรไกรล่างในแนวหน้าหลังเทียบกับฐานกะโหลกศีรษะ
NPog-FH (องศา)	มุมที่เกิดจากการตัดกันของระนาบใบหน้าและระนาบแฟรงก์ฟอร์ต แสดงตำแหน่งแนวหน้าหลังของคาง
ANB (องศา)	มุมที่เกิดจากระนาบ NA ทำกับระนาบ NB แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขากรรไกรบนและล่างในแนวหน้าหลัง
Wits (มิลลิเมตร)	ระยะทางระหว่าง A และ B ในแนวตั้งฉากกับระนาบบดเคี้ยว แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขากรรไกรบนและล่างในแนวหน้าหลัง
SN-GoGn (องศา)	มุมที่เกิดจากระนาบ SN ทำกับระนาบ GoGn แสดงลักษณะโครงสร้างใบหน้าในแนวตั้ง
FMA (องศา)	มุมที่เกิดจากระนาบแฟรงก์ฟอร์ตทำกับระนาบขากรรไกรล่าง แสดงลักษณะโครงสร้างใบหน้าในแนวตั้ง

ตารางที่ 2 แสดงการวัดมุมและระยะของฟันที่ใช้ในงานวิจัย (รูปที่ 3-4)

Table 2 Definition of dental cephalometric measurement in the present study

มุมและระยะทาง	คำจำกัดความ
IMPA (องศา)	มุมที่เกิดจากแนวแกนฟันตัดหน้าล่างทำกับระนาบขากรรไกรล่าง แสดงมุมของฟันตัดหน้าล่างเมื่อเทียบกับระนาบขากรรไกรล่าง
LI-APog (มิลลิเมตร)	มุมที่เกิดจากแนวแกนของฟันตัดหน้าล่างทำกับระนาบ APog แสดงตำแหน่งของฟันตัดหน้าล่าง
UI-NA (องศา)	มุมที่เกิดจากแนวแกนของฟันตัดหน้าบนทำกับระนาบ NA แสดงมุมเอียงของฟันตัดหน้าบน
UI-NA (มิลลิเมตร)	ระยะที่วัดจากจุด Is (ปลายฟันตัดหน้าบน) ทำกับระนาบ NA แสดงตำแหน่งของฟันตัดกลางหน้าบน
LI-NB (องศา)	มุมที่เกิดจากแนวแกนของฟันตัดหน้าล่างทำกับระนาบ NB แสดงมุมเอียงของฟันตัดหน้าล่าง
LI-NB (มิลลิเมตร)	ระยะที่วัดจากจุด li (ปลายฟันตัดหน้าล่าง) ทำกับระนาบ NB แสดงตำแหน่งของฟันตัดหน้าล่าง
UI-LI (องศา)	มุมที่เกิดจากแนวแกนของฟันตัดหน้าบนทำกับแนวแกนของฟันตัดหน้าล่าง แสดงมุมระหว่างฟันตัดหน้าบนและฟันตัดหน้าล่าง

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมาวิเคราะห์สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive Statistics) ทดสอบการแจกแจงของข้อมูลโดยสถิติ Kolmogorov-Smirnov พบว่าข้อมูลมีการแจกแจงปกติ จึงทำการหาค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด ของค่าเซฟาโลเมตริกโครงสร้างกระดูกใบหน้าและฟัน และทดสอบความแตกต่างระหว่างเพศของค่าเซฟาโลเมตริกต่าง ๆ โดยใช้สถิติ

Independent *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($\alpha = 0.05$) ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 21.0

การทดสอบความน่าเชื่อถือของการวัด (Method error)

ทดสอบความน่าเชื่อถือในตัวผู้วิจัยในการวัดค่าเซฟาโลเมตริก โดยสุ่มภาพรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 30 ภาพ วาดภาพลอกลายใหม่และวัดซ้ำในระยะเวลาห่างกัน

2 สัปดาห์ และทำการทดสอบความน่าเชื่อถือของผู้วิจัยในการวัดซ้ำ โดยสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (Intraclass correlation coefficient: ICC) เท่ากับ 0.9 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($\alpha = 0.05$) และทดสอบความน่าเชื่อถือของการวัดระหว่างผู้วิจัยและผู้เชี่ยวชาญ 1 คน โดยสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (Intraclass correlation coefficient: ICC) เท่ากับ 0.9 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($\alpha = 0.05$)

ผลการศึกษา

จากการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างเด็กไทยที่มีลักษณะการสบฟันดี กล่าวคือมีการสบฟันกรามแท้ซี่ที่ 1 แบบประเภทที่ 1 ตามเกณฑ์ของ Angle มีระยะเหลื่อมของฟันในแนวดิ่งและแนวระนาบปกติ

มีการเรียงตัวของฟันปกติ จำนวน 84 คน อายุเฉลี่ย 9.97 ± 0.78 ปี เป็นเพศชาย 44 คน อายุเฉลี่ย 10.0 ± 0.79 ปี เพศหญิง 40 คน อายุเฉลี่ย 9.94 ± 0.78 ปี พบค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ค่าเซฟาโลเมตริกของโครงสร้างกระดูกใบหน้าและฟัน ที่ใช้ในการวิจัยของกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่างเด็กชาย และกลุ่มตัวอย่างเด็กหญิง ดังแสดงในตารางที่ 5 และ 6 พบว่าค่าเซฟาโลเมตริกของโครงสร้างกระดูกใบหน้าและฟันของเด็กชายและเด็กหญิงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อันได้แก่ มุม NPog-FH, ระยะ LI-APog, มุม LI-NB, ระยะ LI-NB และมุม UI-LI

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเซฟาโลเมตริกของโครงสร้างกระดูกใบหน้า ที่ใช้ในการวิจัยของกลุ่มตัวอย่าง

Table 3 Means and standard deviations of skeletal cephalometric measurement in the present study

Variables	Assessment	Total (n=84)				
		Max	Min	Mean	SD	Range
Skeletal analysis						
<u>Anteroposterior relationship</u>						
SNA (deg)	Maxillary position	92.50	74.50	81.93	4.19	77.7 - 86.1
SNB (deg)	Mandibular position	88.00	71.00	79.68	3.92	75.8 - 83.6
NPog-FH (deg)	Mandibular position	93.00	80.50	87.34	3.03	84.3 - 90.3
ANB (deg)	Maxillomandibular relationship	7.00	0.50	2.96	1.76	1.2 - 4.7
Wits (mm)	Maxillomandibular relationship	0.00	-13.00	-4.90	2.94	- 7.8 - (-2)
<u>Vertical relationship</u>						
SN-GoGn (deg)	Facial growth	43.00	17.00	31.20	5.30	25.9 - 36.5
FMA (deg)	Mandibular growth	39.50	13.50	25.54	4.95	20.6 - 30.5

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเซฟาโลเมตริกของโครงสร้างฟัน ที่ใช้ในการวิจัยของกลุ่มตัวอย่าง

Table 4 Means and standard deviations of dental cephalometric measurement in the present study

Variables	Assessment	Total (n=84)				
		Max	Min	Mean	SD	Range
Dental analysis						
IMPA (deg)	Mandibular incisor inclination	111.50	79.50	96.60	6.26	90.3 - 102.9
LI-APog (mm)	Mandibular incisor position	11.50	-1.00	4.70	2.33	2.1 - 7.0
UI-NA (deg)	Maxillary incisor inclination	43.00	17.50	29.33	6.14	23.2 - 35.5
UI-NA (mm)	Maxillary incisor protrusion	13.00	1.50	6.86	2.89	4.0 - 9.8
LI-NB (deg)	Mandibular incisor inclination	41.00	17.50	28.83	4.72	24.1 - 33.6
LI-NB (mm)	Mandibular incisor protrusion	11.00	2.00	6.23	2.01	4.2 - 8.2
UI-LI (deg)	Interincisal relationship	140.50	105.50	120.38	7.78	112.6 - 128.2

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเซฟาโลเมตริกของโครงสร้างกระดูกใบหน้า ของกลุ่มตัวอย่างระหว่างเพศ

Table 5 Means and standard deviations of skeletal cephalometric measurement between boys and girls

Variables	Total (n=84)		Boys (n=44)		Girls (n=40)		P
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Skeletal analysis							
SNA (deg)	81.93	4.19	81.51	4.08	82.38	4.31	0.351
SNB (deg)	79.68	3.92	79.27	4.17	80.13	3.63	0.322
NPog-FH (deg)	87.34	3.03	86.70	3.03	88.03	2.91	0.045*
ANB (deg)	2.96	1.76	3.13	1.75	2.77	1.77	0.347
Wits (mm)	-4.90	2.94	-4.90	3.10	-4.90	2.80	0.999
SN-GoGn (deg)	31.20	5.30	30.75	5.81	31.69	4.70	0.421
FMA (deg)	25.54	4.95	25.23	5.31	25.88	4.58	0.551

* = Significant difference at $p < 0.05$

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเซฟาโลเมตริกของโครงสร้างฟัน ของกลุ่มตัวอย่างระหว่างเพศ

Table 6 Means and standard deviations of dental cephalometric measurement between boys and girls

Variables	Total (n=84)		Boys (n=44)		Girls (n=40)		P
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Dental analysis							
IMPA (deg)	96.60	6.26	96.46	6.55	96.75	6.02	0.834
LI-APog (mm)	4.70	2.33	4.14	2.20	5.31	2.35	0.022*
UI-NA (deg)	28.95	6.73	27.71	7.22	30.28	5.96	0.176
UI-NA (mm)	6.86	2.89	6.44	2.98	7.31	2.76	0.174
LI-NB (deg)	28.83	4.72	27.73	5.09	30.02	4.03	0.027*
LI-NB (mm)	6.23	2.01	5.81	2.00	6.68	1.94	0.047*
UI-LI (deg)	120.38	7.78	122.41	7.80	118.19	7.23	0.013*

* = Significant difference at $p < 0.05$

บทวิจารณ์

เนื่องจากมีความแตกต่างของโครงสร้างกะโหลกศีรษะและใบหน้าในแต่ละกลุ่มประชากร เชื้อชาติ เพศและอายุ⁶ จึงควรมีการศึกษาค่ามาตรฐานเซฟาโลเมตริกของโครงสร้างกระดูกและฟันในเด็กชุดฟันผสมของชนชาตินั้น ๆ เพื่อนำไปใช้ในการวินิจฉัยและวางแผนการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันในผู้ป่วยเด็ก ซึ่งค่ามุมและระยะทางที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ของกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด สามารถแสดงถึงลักษณะของโครงสร้างกระดูกและฟันของเด็กที่มีการสบฟันกรามแบบที่ 1 ได้ดังนี้ ค่ามุม SNA แสดงถึงตำแหน่งของขากรรไกรบนเมื่อเทียบกับฐานกะโหลกศีรษะ โดยค่า SNA ในเด็กชายและเด็กหญิงจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุ¹³ แต่จะมีความแตกต่างกันระหว่างเพศ โดยขากรรไกรบนของเด็กหญิงจะยื่นกว่าของเด็กชาย⁷ แต่จากการศึกษาของเด็กชาวอเมริกันจะพบว่าตำแหน่งขากรรไกรบนของเด็กชายอยู่ยื่นกว่า⁵ ค่าเฉลี่ย SNA จากการศึกษานี้มีค่าต่ำกว่าการศึกษามาตรฐาน

ในกลุ่มคอเคเซียน (ค่ามาตรฐานเท่ากับ 82 ± 2 องศา)¹⁴ แสดงได้ว่าตำแหน่งขากรรไกรบนอยู่ตำแหน่งถอยหลังกว่าเมื่อเทียบกับฐานกะโหลกศีรษะของชาวคอเคเซียน แต่เมื่อเทียบกับการศึกษาในกลุ่มเด็กไทยอายุ 8-16 ปี พบว่าค่าเฉลี่ย SNA มีค่าใกล้เคียงกัน¹⁵ เมื่อเทียบกับผลการศึกษาในผู้ใหญ่ไทย^{9,10,16} พบว่าตำแหน่งขากรรไกรบนในกลุ่มตัวอย่างผู้ใหญ่ไทยอยู่ยื่นกว่ากลุ่มตัวอย่างของการศึกษานี้ และเมื่อเทียบกับการศึกษาของชนชาติอื่นในชุดฟันผสม พบว่าเด็กชาวไต้หวันที่มีค่าเฉลี่ย SNA เท่ากับ 83.36 ± 2.90 ซึ่งมีตำแหน่งขากรรไกรบนอยู่ยื่นกว่าเด็กของการศึกษานี้¹³ บางการศึกษาพบว่าตำแหน่งของขากรรไกรบนอยู่ใกล้เคียงกับการศึกษานี้^{5-7,17,18}

ค่า SNB แสดงตำแหน่งของขากรรไกรล่างเมื่อเทียบกับฐานกะโหลกศีรษะ ตำแหน่งขากรรไกรล่างของการศึกษานี้อยู่ถอยหลังกว่าตำแหน่งของค่ามาตรฐาน (ค่ามาตรฐานเท่ากับ 80 ± 2 องศา)¹⁴

และเมื่อเทียบกับการศึกษาในผู้ใหญ่ไทยแล้ว^{9,16} พบว่าตำแหน่งขากรรไกรล่างในกลุ่มตัวอย่างผู้ใหญ่ไทยอยู่ยื่นกว่าเด็กจากการศึกษานี้ และเมื่อเทียบกับการศึกษาในกลุ่มเด็กชนชาติอื่นพบว่าในเด็กชาวไต้หวัน¹³ เด็กชาวญี่ปุ่น¹⁷ เด็กชาวโปแลนด์⁷ เด็กชาวสโลวีเนีย⁶ เด็กชาวนอร์เวย์⁵ และเด็กชาวอเมริกัน¹⁸ มีลักษณะขากรรไกรล่างถอยหลังมากกว่าเด็กจากการศึกษานี้โดยค่าเฉลี่ย SNB จากการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างระหว่างเพศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกับการศึกษาของเด็กชาวโปแลนด์⁷ สำหรับค่า ANB นั้นใช้แสดงถึงความสัมพันธ์ของขากรรไกรบนและขากรรไกรล่างในแนวหน้าหลัง จากการศึกษาค้างนี้พบว่าเด็กมีแนวโน้มโครงสร้างใบหน้าแบบที่ 1 เมื่อเทียบกับผลการศึกษาของผู้ใหญ่ไทยพบว่ามีแนวโน้มที่จะมีลักษณะโครงสร้างขากรรไกรแบบที่ 2 (Skeletal class II)¹⁰ และเมื่อเปรียบเทียบกับเด็กต่างชาติ พบว่าเด็กชาวโปแลนด์มีลักษณะโครงสร้างใบหน้าแบบที่ 1 เช่นเดียวกับการศึกษานี้⁷ สำหรับเด็กชาวไต้หวัน¹³ และเด็กชาวสโลวีเนีย⁶ มีแนวโน้มที่จะมีลักษณะโครงสร้างใบหน้าแบบที่ 2 ความสัมพันธ์ของกระดูกขากรรไกรบนและล่าง (ANB) จะพบความแตกต่างอย่างเด่นชัดในเพศชายและเพศหญิง ในเพศชายมีการลดลงของมุม ANB ตามช่วงอายุ ในขณะที่เพศหญิงมีการเพิ่มขึ้นของมุม ANB¹⁹ แต่จากการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของค่า ANB ระหว่างเด็กชายและเด็กหญิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Drevenšek และคณะที่ไม่พบความแตกต่างของค่าเซฟาโลเมทริกต่าง ๆ ระหว่างเด็กชายและเด็กหญิง⁶ สำหรับการศึกษาของเด็กชาวสิงคโปร์พบความแตกต่างระหว่างเพศของการยื่นของขากรรไกรบนและล่าง รวมทั้งการเอียงตัวและระยะการยื่นของฟันหน้าบนและล่าง²⁰ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้ที่พบว่าการเอียงตัวและระยะการยื่นของฟันหน้าล่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเด็กชายและเด็กหญิง นอกจากนี้ก็ยังพบความแตกต่างระหว่างเพศของการเอียงตัวและระยะการยื่นของฟันหน้าบนและล่างในเด็กชาวซาอุดีอาระเบีย²¹

ในเพศหญิงจะพบว่ากระดูกขากรรไกรล่างมีการเจริญมากในช่วงเด็กก่อนการเจริญเติบโตวัยหนุ่มสาว (Pubertal spurt) 1-2 ปี แต่ในเพศชายจะพบได้ไม่ชัดเจน²² เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเด็กชายและเด็กหญิงจากการศึกษานี้พบว่ามุม NPOg-FH มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยมุม NPOg-FH นั้นเป็นค่าที่บอกถึงตำแหน่งของกระดูกขากรรไกรล่างว่ายื่นหรือหด ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่าค่าเฉลี่ยมุมในเด็กหญิงมากกว่าเด็กชาย

ในส่วนของการวิเคราะห์ฟัน ค่า UI-NA แสดงถึงการเอียงตัวของฟันตัดหน้าบนกับระนาบ NA ถ้ามุมนี้มีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ย แสดงว่าฟันหน้าบนเอียงไปด้านหน้ามากกว่าปกติ (Proclined) เมื่อเปรียบเทียบ

กับส่วนหน้าสุดของขากรรไกรบน ถ้ามุมนี้มีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ย แสดงว่าฟันหน้าบนเอียงมาด้านหลังมากกว่าปกติ (Retroclined) เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนหน้าสุดของขากรรไกรบน จากการศึกษานี้ของผู้ใหญ่คนไทยพบว่าฟันหน้าบนในผู้ใหญ่ไทยเอียงไปทางด้านหลัง (Retroclined) มากกว่าเด็กในการศึกษานี้^{9,10} รวมทั้งในการศึกษาของเด็กชาวสโลวีเนียชุดฟันผสม⁶ และเด็กชาวเกาหลีอายุ 7-11 ปี ที่มีการสบฟันแบบ Class I malocclusion²³ สำหรับตำแหน่งของฟันหน้าบนพิจารณาจากระยะ UI-NA (mm) ตำแหน่งฟันหน้าบนจากการศึกษานี้เอียงไปทางด้านหลังมากกว่าผลการศึกษาของสุรชัยเดชคุณารและคณะ¹⁰ แต่ตำแหน่งของฟันหน้าบนมีค่าใกล้เคียงกับผลการศึกษาของวรรณาสุชาติ⁹

การเอียงตัวของฟันหน้าล่างพิจารณาจากค่าเฉลี่ย LI-NB การศึกษาในผู้ใหญ่คนไทยพบว่าฟันหน้าล่างเอียงไปทางด้านหน้ามากกว่ากลุ่มตัวอย่างของการศึกษานี้^{9,10} ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Drevenšek และคณะ ที่ได้ทำการศึกษาในเด็กชาวสโลวีเนียชุดฟันผสมพบว่าฟันหน้าล่างเอียงไปทางด้านหลังมากกว่า⁶ ระยะที่แสดงถึงความยื่นของฟันตัดหน้าล่างในแนวหน้าหลัง ได้แก่ ระยะ LI-NB (mm) สำหรับการศึกษาของผู้ใหญ่คนไทยนั้น พบว่ามีทั้งตำแหน่งของปลายฟันตัดหน้าล่างที่อยู่ใกล้เคียงกับการศึกษานี้¹⁰ หากเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในเด็กชาวสโลวีเนียพบว่าตำแหน่งปลายฟันตัดหน้าล่างอยู่ไปทางด้านหลังมากกว่าผลของการศึกษานี้⁶ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเด็กชายและเด็กหญิงพบว่าทั้งมุมและระยะทาง LI-NB มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ระยะ LI-APOg ซึ่งแสดงถึงตำแหน่งของฟันหน้าล่างในแนวหน้าหลังเมื่อเทียบกับระนาบ A-Pog ก็ยังมีความแตกต่างกันระหว่างเด็กชายและเด็กหญิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การพิจารณาระยะของปลายขอบด้านตัดของฟันตัดซี่กลางห่างจากระนาบ APOg เพียงอย่างเดียว อาจจะทำให้ผลที่ได้คลาดเคลื่อน เนื่องจากระนาบ APOg ทำมุมที่ผิดปกติกับแนวตั้งหรือมุมของฟันตัดซี่กลางล่างทำกับระนาบขากรรไกรไม่เหมาะสม ดังนั้นจึงควรเทียบกับค่าเซฟาโลเมทริกของระยะฟันตัดหน้าล่างค่าอื่นร่วมด้วย

ในแต่ละกลุ่มประชากรได้มีการศึกษาภาพรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างของโครงสร้างกระดูกและฟันที่แตกต่างกันไป ซึ่งค่ามาตรฐานในรายงานการศึกษาส่วนใหญ่ศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ ค่าเซฟาโลเมทริกที่ได้จึงมีค่ามากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษานี้ สำหรับการศึกษาค่ามาตรฐานของโครงสร้างกระดูกและฟันในกลุ่มตัวอย่างคนไทย^{9,10,16} ได้ศึกษาเฉพาะผู้ที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่เช่นเดียวกัน ซึ่งมักจะพบว่าค่าเซฟาโลเมทริกจากการศึกษาที่กล่าวมาแล้วข้างต้นนั้นมีค่ามากกว่าผลการศึกษาของกลุ่มตัวอย่างในงานวิจัยนี้ สำหรับการศึกษาค่ามาตรฐานของ

โครงสร้างกระดูกและฟันในเด็กที่กำลังเจริญเติบโตของชนชาติอื่น มีหลายการศึกษา^{3-8,13,23} ซึ่งค่าเซฟาโลเมตริกที่ใช้ในการวิเคราะห์ มีความแตกต่างกันไปเช่นกัน รวมทั้งช่วงอายุของกลุ่มตัวอย่างก็ มีความแตกต่างกัน อีกทั้งการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างเด็กไทยยังไม่ กว้างขวาง^{15,24-27} จึงยังไม่พบรายงานค่ามาตรฐานลักษณะโครงสร้าง กระดูกและฟันที่เป็นค่าตัวแทนของเด็กไทย

การวิเคราะห์ค่าเซฟาโลเมตริกของโครงสร้างกระดูกและ ฟันแต่ละเกณฑ์การวิเคราะห์จะมีเกณฑ์มาตรฐานเฉลี่ยของคนปกติ ของชนชาตินั้น โดยกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับเลือกมีลักษณะของโครงสร้าง ที่ดีและได้สัดส่วน สามารถนำมาเป็นเกณฑ์มาตรฐานในการเปรียบเทียบ และวิเคราะห์ถึงความผิดปกติ ซึ่งจะนำมาเป็นแนวทางในการวางแผน การรักษาแก่ผู้ป่วยที่ต้องการรับการรักษาทันทีหรือการจัดฟัน แม้การวิจัยนี้จะยังไม่สมบูรณ์ อันเนื่องมาจากการศึกษาในกลุ่ม ตัวอย่างเด็กไทยเพียงจังหวัดเดียว ไม่อาจเป็นตัวแทนค่ามาตรฐาน สำหรับเด็กไทยได้ ดังนั้นการวิจัยนี้จึงเป็นการรวบรวมค่าเฉลี่ยใน เด็กไทยอายุ 7-10 ปี ที่มีการสบฟันกรามแบบที่ 1 เพื่อเป็นข้อมูล พื้นฐานในการศึกษาต่อไป โดยนำผลการศึกษาที่ได้ไปใช้หาค่าปกติ เด็กไทยในอนาคต

บทสรุป

ค่าเซฟาโลเมตริกที่ได้จากการศึกษานี้แสดงถึงลักษณะ ของโครงสร้างกระดูกและฟันของเด็กไทยกลุ่มหนึ่งที่มีการสบฟัน กรามแบบที่ 1 ช่วงอายุ 7-10 ปี ซึ่งค่าเซฟาโลเมตริกดังกล่าวมี ความแตกต่างจากการศึกษาอื่นในเด็กวัยเดียวกัน การศึกษานี้เป็น เพียงการศึกษาในเด็กไทยกลุ่มหนึ่งเท่านั้นอาจยังไม่ใช่ค่าปกติของ เด็กไทยที่จะสามารถนำไปปรับใช้ให้เหมาะสมกับผู้ป่วยเด็กไทยที่ เข้ารับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟัน ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เกี่ยวกับเด็กไทยที่อยู่อาศัยในภูมิภาคต่าง ๆ เพื่อรวบรวมให้ได้ข้อมูล เกี่ยวกับค่าปกติของเด็กไทย และควรมีการศึกษาในเด็กช่วงกลุ่ม อายุอื่นอีกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รศ.ทญ.ดร.บุษยรัตน์ สันติวงษ์ และ ผศ.ทญ.ดร.อ้อยทิพย์ ขาวการคำ ในการแนะนำและให้คำปรึกษา งานวิจัย ขอขอบคุณทุนวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์-มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ขอขอบคุณคลินิกรังสีวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ ที่อนุเคราะห์เครื่องถ่ายภาพรังสีนอกช่องปาก ดิจิทัล เพื่อใช้ในการวิจัย และขอขอบคุณผู้เข้าร่วมวิจัยและ ผู้ปกครองของอาสาสมัครทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

1. Cotton WN, Takano WS, Wong WM. The Downs analysis applied to three other ethnic groups. *Angle Orthod* 1951;21(4):213-20.
2. Sassouni V. A roentgenographic cephalometric analysis of cephalo-facio-dental relationships. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1955;41(10):735-64.
3. Downs WB. The role of cephalometrics in orthodontic case analysis and diagnosis. *Am J Orthod* 1952;38(3):162-82.
4. Bishara SE. Longitudinal cephalometric standards from 5 years of age to adulthood. *Am J Orthod* 1981;79(1):35-44.
5. El-Batouti A, Bishara S, Ogaard B, Jakobsen J. Dentofacial changes in Norwegian and lowan populations between 6 and 18 years of age. *Eur J Orthod* 1995;17(3):241-9.
6. Drevensek M, Farcnik F, Vidmar G. Cephalometric standards for Slovenians in the mixed dentition period. *Eur J Orthod* 2006;28(1):51-7.
7. Obloj B, Fudalej P, Dudkiewicz Z. Cephalometric standards for Polish 10-year-olds with normal occlusion. *Angle Orthod* 2008;78(2):262-9.
8. Meka M, Sandipamu T, Reddy R, Natta S, Aduri R, Dande S. Establishing lateral cephalometric norms for Nalgonda children with mixed dentition. *J Orthod Res* 2015;3(2):134-7.
9. Suchato W, Chaiwat J. Cephalometric evaluation of the dentofacial complex of Thai adults. *J Dent Assoc Thai* 1984;34(5):233-42.
10. Dechkunakorn S, Chaiwat J, Sawaaengkit P, Anuwongnukorh N, Taweedsed N. Thai adult norms in various lateral cephalometric analyses. *J Dent Assoc Thai* 1994;44(5-6):202-12.
11. Ackerman JL, Proffit WR. Preventive and interceptive orthodontics: a strong theory proves weak in practice. *Angle Orthod* 1980;50(2):75-86.
12. Proffit WR, Fields HW, Sarver DM. Contemporary orthodontics. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2014.
13. Chen YW, Inami K, Matsumoto N. A study of Steiner cephalometric norms for Chinese children. *J Osaka Dent Univ* 2015;49(2):237-44.
14. Steiner CC. Cephalometrics for you and me. *Am J Orthod* 1953; 39(10):729-55.
15. Suntharasaj P. A cephalometric analysis of children in Bangkok age 8-16 years by McNamara analysis and Bjork-Jarabak analysis [dissertation]. Bangkok: Chulalongkorn university; 1993.
16. Sorathesn K. Craniofacial norm for Thai in combined orthodontic surgical procedure. *J Dent Assoc Thai* 1988;38(5):190-201.
17. Inada E, Saitoh I, Hayasaki H, Yamada C, Iwase Y, Takemoto Y, et al. Cross-sectional growth changes in skeletal and soft tissue cephalometric landmarks of children. *Cranio* 2008;26(3):170-81.
18. Bishara SE, Peterson LC, Bishara EC. Changes in facial dimensions and relationships between the ages of 5 and 25 years. *Am J Orthod* 1984;85(3):238-52.
19. Bishara SE, Jakobsen JR, Treder J, Nowak A. Arch width changes

from 6 weeks to 45 years of age. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997;111(4):401-9.

20. Yeong P, Huggare J. Morphology of Singapore chinese. *Eur J Orthod* 2004;26(6):605-12.

21. Hassan AH. Cephalometric norms for the Saudi children living in the western region of Saudi Arabia: a research report. *Head Face Med* 2005;1:5.

22. Petdachai S. Essential knowledge of puberty growth, mandibular prognathism and face mask. Bangkok: Chulalongkorn university; 2016.

23. Oh S, Lee J, Kim J, Ra J. Correlation between the Inclinations of the Incisors and Lips in Mixed Dentition. *J Korean Acad Pediatr Dent* 2018;45(1):21-31.

24. Chengprapakorn S. Roentgenographic cephalometry study in Thai children age 11-16 years [dissertation]. Bangkok: Chulalongkorn University; 1981.

25. Jindarochanakul P. Ricketts analysis of cephalometric roentgenography in Thai children 8-16 years [dissertation]. Bangkok: Chulalongkorn university; 1982.

26. Nitipavachon W. Steiner's analysis of cephalometric roentgenography in Chiang Mai children age 8-14 years [dissertation]. Bangkok: Chulalongkorn university; 1985.

27. Raungpaka S, Pusaksrikit S, Visetsiri I. A Comparative dental occlusion and skeletal base anteroposterior relationships in mixed dentition groups. *M Dent J* 1989;9(2):64-9.

ความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนของไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมชนิดวันเคิร์ฟ ไฮเฟล็กซ์อีดีเอ็ม เวฟวันโกลด์ และเรซิพรอคบลู ในคลองรากจำลองที่มีหนึ่งและสองความโค้ง Cyclic Fatigue Resistance of One Curve, Hyflex EDM, WaveOne Gold and Reciproc Blue Nickel-Titanium Rotary Files in Single and Double Curvature Simulated Canals

เถลิงศักดิ์ สมัครสมาน¹, ภิญญดา สินสมุทร¹, รัชฎา ฉายจิต², อุทัยวรรณ อารยะตระกูลลิขิต¹

Thalerngsak Samaksamarn¹, Pinyada Sinsamutra¹, Rajda Chaichit², Uthaiwan Arayatrakoollikit¹

¹สาขาวิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น ประเทศไทย

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

²สาขาวิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น ประเทศไทย

²Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนของไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมที่ใช้เครื่องมือเพียงตัวเดียวในการขยายคลองราก 4 ชนิดในคลองรากฟันจำลองทั้งหนึ่งและสองความโค้ง ได้แก่ วันเคิร์ฟไฟล์ ไฮเฟล็กซ์อีดีเอ็มไฟล์ เวฟวันโกลด์ ไพรมารีไฟล์ และเรซิพรอคบลู อาร์ 25 ไฟล์ กลุ่มละ 50 ไฟล์ ทดสอบโดยให้ไฟล์หมุนในคลองรากจำลองที่ทำจากแท่งสแตนเลสที่มีหนึ่งความโค้ง (มุมความโค้งคลองราก 60 องศา รัศมีความโค้ง 5 มิลลิเมตร) และคลองรากจำลองที่มีสองความโค้ง (มุมความโค้งส่วนต้น 60 องศา รัศมีความโค้ง 5 มิลลิเมตร และมุมความโค้งส่วนปลาย 70 องศา รัศมีความโค้ง 2 มิลลิเมตร) บันทึกเวลาตั้งแต่ไฟล์เริ่มหมุนจนกระทั่งหัก นำชิ้นส่วนไฟล์ที่หักทุกชิ้นไปศึกษาลักษณะการหักภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติทดสอบ Kruskal-Wallis Post hoc Dunn tests ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า ในคลองรากจำลองหนึ่งความโค้ง ไฮเฟล็กซ์อีดีเอ็มไฟล์มีความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในคลองรากจำลองสองความโค้ง พบว่า วันเคิร์ฟไฟล์มีความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ: ความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุน, คลองรากจำลอง, ไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมแบบหมุนชนิดใช้เพียงตัวเดียว, คลองรากที่มีหนึ่งความโค้ง, คลองรากที่มีสองความโค้ง

Abstract

This study aimed to compare the cyclic fatigue resistance of four single-file Nickel-Titanium systems in both single curvature and double curvature canals. Fifty samples (N=50) of One Curve, Hyflex EDM, WaveOne Gold Primary, and Reciproc Blue R25 instruments were tested. Simulated canals made of stainless steel with a single (60° angle of curvature and 5 mm radius of curvature) or double curvature (coronal curve, 60° angle of curvature and 5 mm radius of curvature; and apical curve, 70° angle of curvature and 2 mm radius of curvature) were used for testing. Each file specimen was tested until fracture occurred and time of failure recorded. The fracture surface was examined using a scanning electron microscope to investigate types of fracture. The data were statistically analyzed using Kruskal-

Wallis Post hoc Dunn tests with 95 % confidence level. Results showed that Hyflex EDM had statistically highest fatigue resistance in single curvature canal. One Curve had statistically lowest fatigue resistance in double curvature canal.

Keywords: Cyclic fatigue resistance, Simulated canal, Single Nickel-Titanium rotary file, Single curvature, Double curvature

Received Date: Jan 17, 2022

Revised Date: Feb 9, 2022

Accepted Date: Mar 29, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.46

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ :

เถลิงศักดิ์ สมัครสมาน, สาขาวิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 123 ถนนมิตรภาพ ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002 ประเทศไทย โทรศัพท์: 043 348 310 อีเมล: thalerngsaks@yahoo.com

Correspondence to :

Thalerngsak Samaksamarn, Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, 123 Mittraphap Road, Nai-Muang, Muang District, Khon Kaen 40002, Thailand. Tel: 043 348 310 E-mail: thalerngsaks@yahoo.com

บทนำ

การทำความสะอาดและการตกแต่งคลองรากฟัน เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการรักษาคงรูปของรากฟันให้ประสบความสำเร็จ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดเนื้อเยื่อที่ติดอยู่ในคลองรากฟัน และเตรียมคลองรากฟันให้เหมาะสมสำหรับการอุดคลองรากฟัน¹ ไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมชนิดหมุนด้วยเครื่องถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการเตรียมคลองรากฟัน เนื่องจากคุณสมบัติของโลหะที่มีสภาพการยืดหยุ่นยิ่งยวด (Super Elasticity) และปรากฏการณ์จำรูป (Shape Memory Effect) ปัจจุบัน ไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมได้รับการพัฒนาจนมาเป็นระบบที่ใช้ไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมเพียงตัวเดียวในการขยายคลองรากฟัน ทำให้ขยายคลองรากฟันได้ง่าย ลดจำนวนเครื่องมือในการทำงาน² แต่ปัญหาสำคัญจากการใช้ไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมที่มักพบบ่อย คือ การหักของเครื่องมือ³ โดยการหักเกิดได้ 2 ลักษณะ ได้แก่ การหักจากการบิด (Torsional Failure) และการหักจากการหมุน (Cyclic Fatigue Failure)⁴ สาเหตุหนึ่งที่มีผลต่อการหักของไฟล้นิกเกิล คือ มุมความโค้งและรัศมีความโค้งของคลองราก โดยคลองรากที่มีรัศมีความโค้งลดลง ทำให้เพิ่มความเครียดของไฟล้นิกเกิลมากขึ้น และการต้านทานการหักของเครื่องมือลดลง⁵

ในปัจจุบันไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมได้รับการพัฒนาโดยมีการปรับปรุงคุณสมบัติของโลหะ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างหน้าตัดของเครื่องมือ การใช้กระบวนการทางความร้อนและกลการ (Thermomechanical Processing) กระบวนการกัดเซาะโลหะด้วยตัวนำไฟฟ้า (Electro-Discharge Machining) เป็นต้น กระบวนการเหล่านี้ช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นและต้านทานการหักของไฟล้นิกเกิลได้ดียิ่งขึ้น⁶⁻⁸ รวมทั้งระบบการหมุนของไฟล้นิกเกิลมีผลต่อการต้านทานการหักเนื่องจาก

การล้าจากการหมุน โดยระบบการหมุนของไฟล้นิกเกิลแบบไปกลับมีค่าความต้านทานการหักสูงกว่าเมื่อเทียบกับระบบการหมุนของไฟล้นิกเกิลแบบทางเดียวไม่ย้อนกลับ^{9,10} แต่มีบางการศึกษาพบว่า ไฟล้นิกเกิลที่มีระบบการหมุนของไฟล้นิกเกิลแบบทางเดียวไม่ย้อนกลับ มีความต้านทานการหักของไฟล้นิกเกิลสูงกว่าระบบการหมุนของไฟล้นิกเกิลแบบไปกลับ^{11,12}

วันเคิร์ฟ เป็นไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมที่ใช้ไฟล้นิกเกิลเพียงตัวเดียวในการขยายคลองรากฟันตัวใหม่ ถูกพัฒนามาจากไฟล้นิกเกิลระบบวันเชป (One Shape, Micro Mega, Besancon, France) โดยโลหะที่นำมาใช้ คือ ซีไวร์ (C.Wire) ซึ่งได้รับการปรับสภาพด้วยกระบวนการอุณหภูมิศาสตร์หรือความร้อน (Heat Treatment) ทำให้เครื่องมือมีความสามารถในการจำรูป โค้งงอได้ดี ทำให้ง่ายต่อการขยายคลองราก^{13,14} ทั้งนี้ การศึกษาเกี่ยวกับความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนในไฟล้นิกเกิลระบบวันเคิร์ฟยังมีการศึกษาน้อยอยู่เมื่อเทียบกับระบบไฟล้นิกเกิลชนิดอื่น วัตถุประสงค์ของการศึกษาคือเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนของไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมที่ใช้เครื่องมือเพียงตัวเดียวชนิดวันเคิร์ฟ ไฮเฟล็กซ์อีดีเอ็ม เวฟวันโกลด์ และเรซิพรอคบลู ในการขยายคลองรากฟันที่โค้งจากแบบจำลองรากฟันที่มีหนึ่งและสองความโค้ง

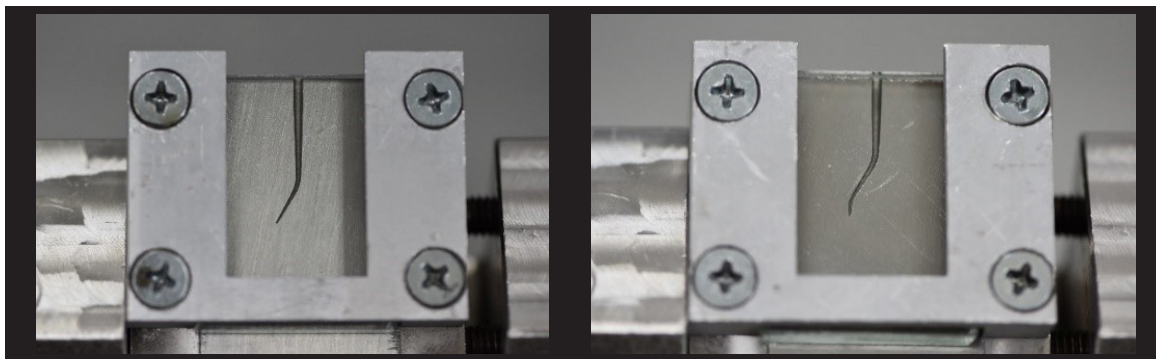
วัตถุประสงค์และวิธีการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการ คำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา โดยอาศัยจากรายงานการศึกษาของ Gündogar & Özyürek¹¹ พบว่า จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่เหมาะสมคือ 25 ไฟล้นิกเกิล ต่อกลุ่มการทดลอง

การเตรียมคลองรากจำลอง

เจาะแท่นสแตนเลสเตรียมเป็นคลองรากจำลองที่มีหนึ่งความโค้งและสองความโค้ง โดยให้คลองรากมีขนาดใหญ่กว่าไฟล์จริงประมาณ 0.1 มิลลิเมตร เพื่อให้ไฟล์หมุนได้อย่างอิสระและมีความยาวของคลองรากอยู่ที่ 19 มิลลิเมตร แท่นสแตนเลสจะถูกคลุมด้วยกระดาษด้านหน้าเพื่อให้เห็นการหมุนและการหักของไฟล์ได้ชัดเจน โดยไม่มีส่วนใดของไฟล์แตะกับกระจก¹⁵ คลองรากที่มีหนึ่งความโค้ง ออกแบบให้คลองรากมีมุมความโค้งของคลองราก 60 องศา และมี

รัศมีความโค้ง 5 มิลลิเมตร ร่วมกับจุดที่โค้งที่สุดอยู่ห่างจากปลายคลองราก 6 มิลลิเมตร ส่วนคลองรากที่มีสองความโค้ง ออกแบบโดยให้ความโค้งแรกในส่วนต้น (coronal) มีมุมความโค้งของคลองราก 60 องศา รัศมีความโค้ง 5 มิลลิเมตร จุดที่โค้งที่สุดห่างจากปลายคลองราก 8 มิลลิเมตร และความโค้งที่สองตำแหน่งส่วนปลาย (apical) มีมุมความโค้งของคลองราก 70 องศา รัศมีความโค้ง 2 มิลลิเมตร และจุดที่โค้งที่สุดห่างจากปลายคลองราก 2 มิลลิเมตร¹⁶



รูปที่ 1 คลองรากจำลองที่นำมาใช้ในการทดลอง

Figure 1 Artificial canals used for the experiment

ไฟล์ทุกตัวจะถูกตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอที่กำลังขยาย 30 เท่า เพื่อดูว่าเครื่องมือไม่มีความผิดปกติใด ๆ เช่น การเสียรูปร่าง รอยบิ่น เป็นต้น หากตรวจพบจะคัดไฟล์ตัวนั้นออกแล้วเปลี่ยนเป็นไฟล์ตัวใหม่

วัดความยาวของไฟล์ก่อนทดสอบทุกครั้งเพื่อเก็บเป็นข้อมูลในการเปรียบเทียบความยาวของไฟล์หลังจากการทดสอบเรียบร้อยแล้ว โดยใช้เครื่องวัดคาร์ลิเปอร์ระบบตัวเลข วัดซ้ำเป็นจำนวนสามครั้งและนำมาหาค่าความยาวเฉลี่ยของเครื่องมือขณะทำการวัด ผู้ทดลองสวมแว่นขยายทางพันธุกรรมที่กำลังขยาย 3.5 เท่า แบ่งไฟล์ออกเป็น 4 กลุ่มย่อย ต่อกลุ่มรูปร่างคลองราก โดยไฟล์ทุกตัวมีความยาว 21 มิลลิเมตร หมุนด้วยเครื่องมือไฟฟ้ายี่ห้อวิคตัสบีลยูซิลเวอร์ (Silver Reciproc, VDW, Munich, Germany) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 วันเคิร์ฟไฟล์ (One Curve, Micro Mega, Besancon, France) (25/.06) ตั้งโปรแกรมเครื่องให้มีความเร็วรอบที่ 300 รอบต่อนาที และแรงบิดที่ 2.5 นิวตัน-เซนติเมตร

กลุ่มที่ 2 ไฮฟเลกซ์อีดีเอ็มไฟล์ (Hyflex EDM, Coltene/Whaledent, Altstätten, Switzerland) (25/~) ตั้งโปรแกรมเครื่องให้มีความเร็วรอบที่ 400 รอบต่อนาที และแรงบิดที่ 2.5 นิวตัน-เซนติเมตร

กลุ่มที่ 3 เวฟวันโกลด์ ไพรมารีไฟล์ (WaveOne Gold Primary, Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) (25/.07)

ตั้งโปรแกรมเครื่องให้เป็น “WaveOne All” ซึ่งบริษัทผู้ผลิตแจ้งว่า WaveOne mode มีความเร็วรอบที่ 350 รอบต่อนาที¹⁷

กลุ่มที่ 4 เรซิพรอกบลู อาร์ 25 ไฟล์ เรซิพรอกบลู อาร์ 25 ไฟล์ (Reciproc Blue R25, VDW, Munich, Germany) (25/.08) ตั้งโปรแกรมเครื่องให้เป็น “Reciproc All” ซึ่งบริษัทผู้ผลิตแจ้งว่า Reciproc mode มีความเร็วรอบที่ 300 รอบต่อนาที¹⁷

ขณะทดสอบ แซ่แท่นคลองรากจำลองบนแท่นยึดในน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) บรรจุในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส วัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมมิเตอร์ก่อนทดลองทุกครั้ง ขณะทดลอง ด้ามกรอกของมอเตอร์ไฟฟ้าจะถูกยึดด้วยที่จับยึดพร้อมฐานเพื่อให้คงที่ ตั้งค่าเริ่มต้นของเครื่องตามชนิดของไฟล์ที่ใช้ และใช้สารกลีเซอรินเป็นสารหล่อลื่น บันทึกการทดลองด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล ตั้งค่าเป็นวิดีโอ 60 เฟรมต่อวินาที บันทึกเวลาตั้งแต่ไฟล์เริ่มหมุนจนกระทั่งหัก เพื่อนำเวลาที่ได้นำมาคำนวณหาจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก (NCF = Number of cycle to failure) โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

$$\text{จำนวนรอบในการหมุน} = \frac{\text{ความเร็วรอบของเครื่องมือ} \times \text{เวลาที่หมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก}}{60}$$

ภายหลังจากการทดสอบ นำไฟล์มาทำความสะอาดด้วยเครื่องสั่นอัลตราโซนิกส์ ซับไฟล์ให้แห้ง นำชิ้นส่วนของไฟล์ที่หักมาวัดความยาวโดยใช้เครื่องวัดคาร์ลิเปอร์ระบบตัวเลข วัดซ้ำเป็นจำนวน

สามครั้งและนำมาหาค่าความยาวเฉลี่ยของเครื่องมือ โดยสวมแว่นขยายทางทันตกรรมที่กำลังขยาย 3.5 เท่าขณะทำการวัด นำชิ้นส่วนไฟล์ที่หักทุกชิ้นเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ความชื้นออกจากวัสดุ จากนั้นนำไฟล์ไปศึกษาลักษณะการหักภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดที่กำลังขยาย 150 และ 3500 เท่าบริเวณหน้าตัด และกำลังขยาย 50 เท่า บริเวณด้านข้าง เพื่อยืนยันว่าไฟล์หักเนื่องจากการล้าของโลหะจากการหมุน

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในแต่ละความโค้งของคลองรากจำลอง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างของเวลาที่หมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก และจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก โดยกำหนดให้ระดับนัยสำคัญที่

$\alpha = 0.05$ ทำการตรวจสอบลักษณะการแจกแจงข้อมูลโดยใช้การทดสอบ Shapiro-Wilk test พบว่า ข้อมูลมีการแจกแจงไม่ปกติ จึงใช้สถิติ Kruskal-Wallis post hoc Dunn tests

ผลการวิจัย

ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviations) ค่ามัธยฐาน (Median) และค่าพิสัยควอร์ไทล์ (Interquartile Range) ของเวลาที่หมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก และจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหักในคลองรากฟันจำลองหนึ่งและสองความโค้ง แสดงในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ามัธยฐาน และค่าพิสัยควอร์ไทล์ของเวลาที่หมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก และจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก ในคลองรากฟันจำลองหนึ่งความโค้ง

Table 1 Mean, standard deviations, median, and interquartile range of time to failure (second) and number of cyclic to failure (NCF) in single curvature simulated canal

ชนิดของเครื่องมือที่หัก (จำนวน 25 ไฟล์/กลุ่ม)	เวลาที่หมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก (วินาที)		จำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก (NCF)	
	Mean±SD	Median±IR	Mean±SD	Median±IR
วันเคิร์ฟ (OC)	231.60 ± 23.44 ^c	239.00 ± 41.00	1158.00 ± 117.22 ^z	1195.00 ± 205.00
ไฮเพล็กซ์อีดีเอ็ม (EDM)	178.60 ± 49.96 ^b	189.00 ± 82.50	1190.67 ± 333.07 ^z	1260.00 ± 550.00
เวฟวันโกลด์ (WOG)	91.40 ± 20.15 ^a	83.00 ± 40.00	533.17 ± 117.54 ^x	484.17 ± 233.33
เรซิพรอกบลู (RB)	168.64 ± 29.90 ^b	171.00 ± 55.00	843.20 ± 149.48 ^y	855.00 ± 275.00

* ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ระดับนัยสำคัญที่ $\alpha=.05$)

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ามัธยฐาน และค่าพิสัยควอร์ไทล์ของเวลาที่หมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก และจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก ในคลองรากฟันจำลองสองความโค้ง

Table 2 Mean, standard deviations, median, and interquartile range of time to failure (second) and number of cyclic to failure (NCF) in double curvature simulated canals

ชนิดของเครื่องมือที่หัก (จำนวน 25 ไฟล์/กลุ่ม)	เวลาที่หมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก (วินาที)		จำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหัก (NCF)	
	Mean±SD	Median±IR	Mean±SD	Median±IR
วันเคิร์ฟ (OC)	84.32 ± 28.91 ^b	78.00 ± 53.00	421.60 ± 144.53 ^x	390.00 ± 265.00
ไฮเพล็กซ์อีดีเอ็ม (EDM)	110.64 ± 45.64 ^b	93.00 ± 71.00	737.60 ± 304.27 ^y	620.00 ± 473.33
เวฟวันโกลด์ (WOG)	105.00 ± 19.87 ^b	101.00 ± 27.00	612.50 ± 115.89 ^y	589.17 ± 157.50
เรซิพรอกบลู (RB)	156.28 ± 38.45 ^a	160.00 ± 57.50	781.40 ± 192.25 ^y	800.00 ± 287.50

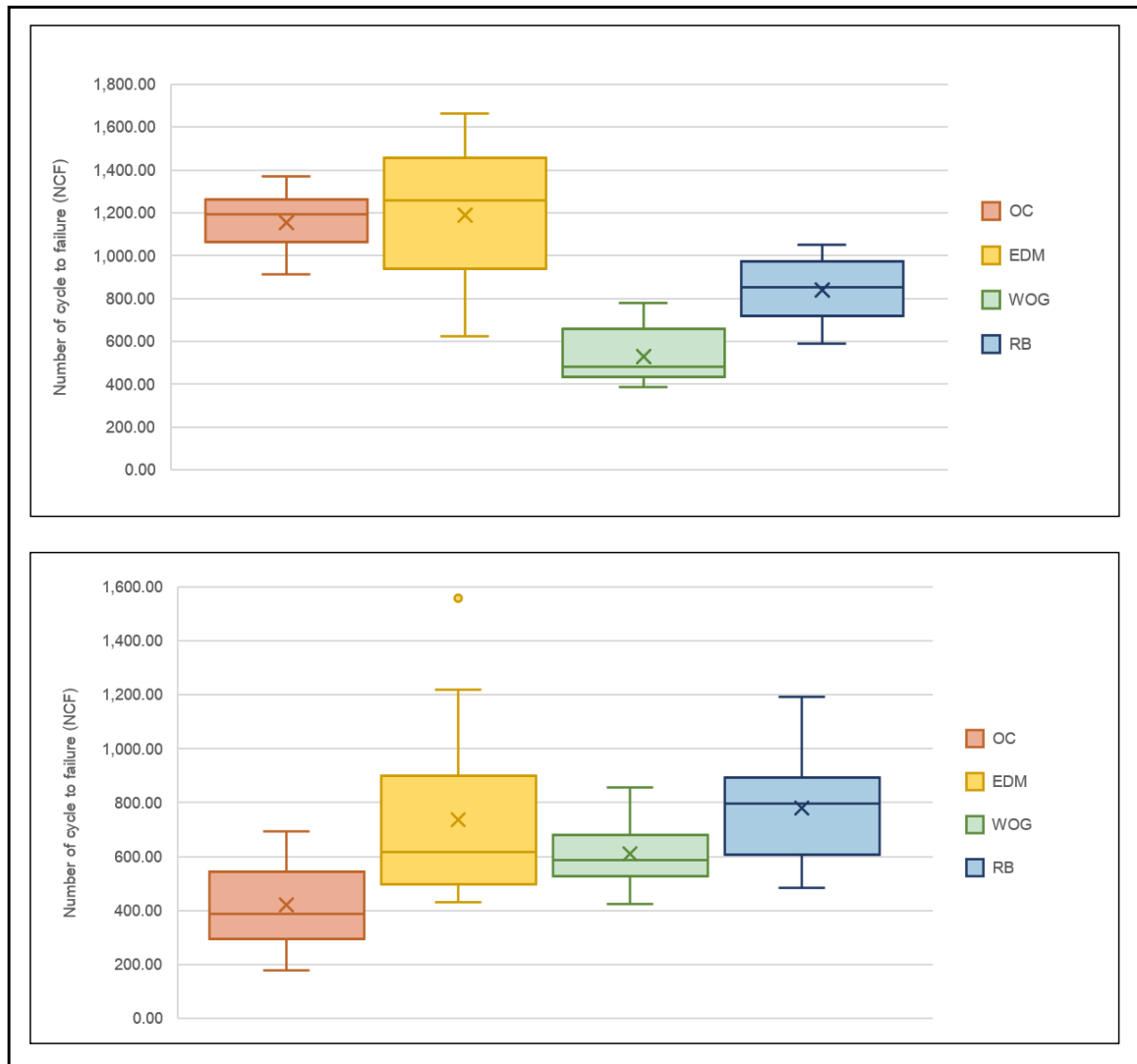
* ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ระดับนัยสำคัญที่ $\alpha=.05$)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหักในคลองรากฟันจำลองหนึ่งความโค้ง พบว่า ไฮเพล็กซ์อีดีเอ็มไฟล์มีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (1190.67 ± 333.07) เมื่อเทียบ

กับเรซิพรอกบลูไฟล์ (843.20 ± 149.48) ($P=.003$) และเวฟวันโกลด์ไฟล์ (533.17 ± 117.54) ($P<.001$) แต่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับวันเคิร์ฟไฟล์ (1158.00 ± 117.22) ($P= 1.000$)

(รูปที่ 2 บน) และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหักในคลองรากฟันจำลองสองความโค้ง พบว่า พบว่า วันเคิร์ฟไฟล์มีจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหักน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (421.60 ± 144.53) เมื่อเทียบกับเวฟวันโกลด์ไฟล์

(612.50 ± 115.89) ($P = .004$) ไฮเฟลกซ์อีดีเอ็มไฟล์ (737.60 ± 304.27) และเรซีพรอคบลูไฟล์ (781.40 ± 192.25) ($P < .001$) แต่เมื่อเทียบระหว่างเรซีพรอคบลูไฟล์ ไฮเฟลกซ์อีดีเอ็มไฟล์ และเวฟวันโกลด์ไฟล์ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 2 ล่าง)

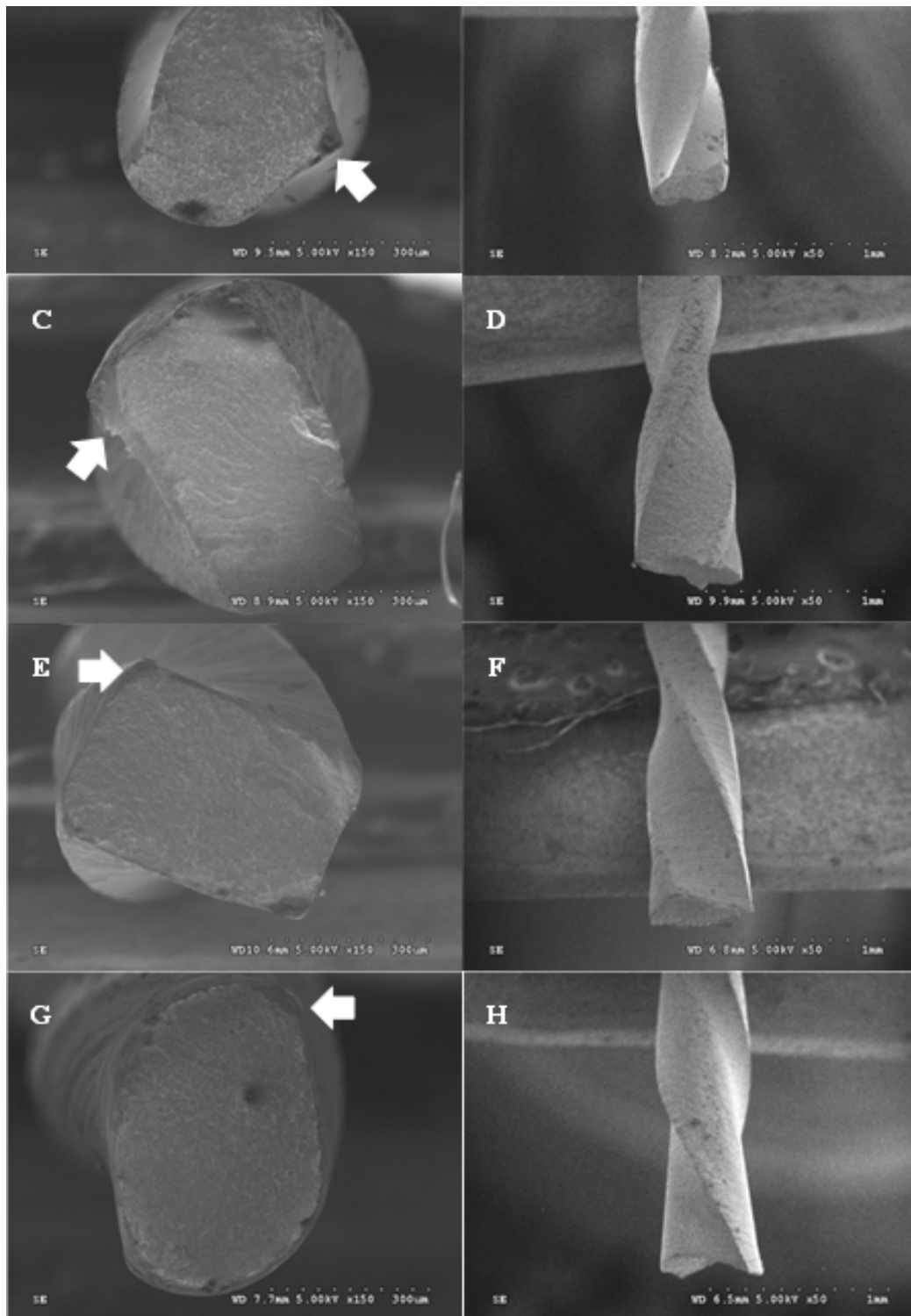


รูปที่ 2 แผนภาพกล่องแสดงจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหักของไฟล์ทั้งหมด 4 ยี่ห้อ ในคลองรากฟันจำลองหนึ่งความโค้ง (บน) และคลองรากฟันจำลองสองความโค้ง (ล่าง)

Figure 2 Box plot showing the number of cyclic to failure (NCF) of 4-typed Nickel-Titanium rotary files in single curvature (upper) and double curvature simulated canals (lower)

เมื่อนำไฟล์ที่หักทุกชิ้นไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า หน้าตัดไฟล์มีบริเวณที่เป็นจุดเริ่มต้นของการหัก (Crack initiation area) โดยพบจุดเริ่มต้นตั้งแต่ 1 จุด

หรือมากกว่า และทุกกลุ่มไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง การบิดเกลียว บริเวณด้านข้างของไฟล์ ทั้งในคลองรากฟันจำลองที่มีหนึ่งและสองความโค้งของไฟล์ทุกตัว แสดงว่าไฟล์เกิดการหักจากการหมุน (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 จากการตรวจไฟล์ทุกกลุ่มภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หลังจากทดสอบการต้านทานการหักจากการหมุน โดยแสดงหน้าตัดและพื้นผิวด้านข้างของวันเคิร์ฟ (A-B), ไฮเฟล็กซ์อีดีเอ็ม (C-D), เวฟวันโกลด์ (E-F) และเรซิพรอคบลู (G-H) โดยตำแหน่งของลูกศรสีขาวชี้ตำแหน่งจุดเริ่มต้นของการหัก

Figure 3 Scanning electron micrographs of fracture surface and longitudinal surface of One Curve (A-B), Hyflex EDM (C-D), WaveOne Gold (E-F) and Reciproc Blue (G-H) in cyclic fatigue resistance test. The white arrows show crack initiation areas

บทวิจารณ์

ประโยชน์จากการใช้ไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมเพียงตัวเดียวในการเตรียมคลองราก คือ ช่วยลดเวลาในการทำงาน ลดจำนวนไฟล้นในการขยายคลองราก¹⁸ แต่กลับทำให้ไฟล้นมีความเครียดสูง ซึ่งเสี่ยงต่อการเกิดการหักจากการล้าและการหมุน² ดังนั้น ไฟล้นที่ใช้เพียงตัวเดียวในการขยายคลองราก ควรมีความต้านทานในการหักสูง¹⁹ ซึ่งอุบัติการณ์ (incidence) ในการเกิดการหักของไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมอยู่ในช่วงร้อยละ 0.09 – 5^{20,21} โดยเมื่อเกิดการหักของไฟล้น ทำให้แนวทางในการพยากรณ์โรค (prognosis) หลังจากรักษาการเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากชิ้นส่วนของไฟล้นไปกีดขวางบริเวณปลายราก ทำให้ไม่สามารถฆ่าเชื้อ (disinfection) ในคลองรากฟันได้²²

ในการศึกษานี้ได้กำหนดให้อุณหภูมิแวดล้อมขณะทดลองอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส เพื่อจำลองอุณหภูมิที่กำหนดในคลองรากฟันจากหลาย ๆ การศึกษาพบว่า เมื่ออุณหภูมิโดยรอบสูงขึ้น ความสามารถในการต้านทานการแตกหักของไฟล้นจะลดลง²³⁻²⁵ ดังนั้น เมื่ออุณหภูมิแวดล้อมอยู่ระหว่างอุณหภูมิเริ่มต้นออสเทนไนต์ (Austenite start temperature (A_s)) และอุณหภูมิสิ้นสุดออสเทนไนต์ (Austenite finish temperature (A_f)) โลหะจะประกอบไปด้วยวัฏภาคมาร์เทนไซต์และวัฏภาคออสเทนไนต์ ทำให้มีความต้านทานการหักสูงขึ้น²⁶ ยิ่งโลหะอยู่ในวัฏภาคมาร์เทนไซต์มากเท่าไร ยิ่งส่งผลให้จำนวนรอบในการหมุนเพิ่มสูงขึ้น²⁷ การศึกษานี้เลือกทดสอบในคลองรากจำลองที่ทำจากโลหะสแตนเลสที่มีการกำหนดมาตรฐานความผาย มุมความโค้งและรัศมีมีความโค้งของคลองราก และความยาวของคลองรากเพื่อให้ได้ลักษณะคลองรากจำลองที่มีความแม่นยำ และควบคุมให้ผลลัพธ์จากการทดสอบมีค่าความคลาดเคลื่อนให้น้อยที่สุด การใช้แบบจำลองคลองรากจะมีมาตรฐานกว่าฟันธรรมชาติหากต้องนำผลการทดสอบของไฟล้นแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบ²⁸ ในการทดสอบนี้ได้เลือกใช้สารกลีเซอริน (glycerin) มาเป็นสารหล่อลื่น (lubricants) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดการเสียดสีระหว่างไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมต่อผนังคลองรากจำลอง และลดการเกิดความร้อนในคลองรากจำลอง²⁹⁻³¹

ไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมแต่ละชนิดที่เลือกนำมาทดสอบทั้ง 4 ยี่ห้อ เป็นไฟล้นที่ใช้เครื่องมือเพียงตัวเดียวในการขยายคลองรากที่มีความต่างกันทั้งระบบการหมุน ขนาด และหน้าตัดของไฟล้น รวมทั้งผ่านการปรับสภาพของโลหะด้วยกระบวนการทางความร้อนและกลการที่แตกต่างกัน โดยไฮเฟลกซ์อีทีเอ็มไฟล้นเป็นไฟล้นที่มีลักษณะทางกลศาสตร์เป็นรูปท่อน้ำ ทำมาจากโลหะชนิดซีเอ็มไวร์ที่ผ่านกระบวนการกัดเซาะโลหะด้วยตัวนำไฟฟ้า เวฟวันโกลด์ไฟล้นพัฒนาต่อมาจากเวฟวันไฟล้น โดยเวฟวันโกลด์ไฟล้นยังคงระบบการหมุนแบบไปกลับ แต่มีการปรับเปลี่ยนโลหะด้วยเทคโนโลยีโกลด์เทอร์มอลทรีตเมนต์

(Gold thermal treatment) เรซิพรอกบลูไฟล้นผลิตด้วยวิธีบลูฮีททรีตเมนต์ (Blue heat-treatment) ที่มีระบบการหมุนแบบไปกลับ และวันเคิร์ฟไฟล้น ผลิตโดยใช้เทคโนโลยีซีไวร์ (C.Wire technology) ซึ่งมาจากบริษัทผู้จำหน่ายได้พัฒนาโลหะซีเอ็ม ไวร์ (CM wire) ร่วมกับการปรับสภาพโลหะด้วยกระบวนการอุณหภูมิศาสตร์ ด้วยวิธีการผลิตดังกล่าว ทำให้อุณหภูมิของการเปลี่ยนรูปร่างออสเทนไนต์ (Austenitic transformation temperature) ถูกปรับให้สูงขึ้น ผลักโครงสร้างของโลหะถูกปรับเรียงใหม่ ทำให้สมรรถภาพของเครื่องมือเพิ่มสูงขึ้น³² รวมทั้งไฟล้นยังมีการเปลี่ยนแปลงหน้าตัดให้แตกต่างกันหลายแบบ โดยบริเวณปลายไฟล้นมีหน้าตัดเป็นรูปสามเหลี่ยม และมีหน้าตัดเป็นรูปร่างแบบเอส (S-shaped) ใกล้กับทางด้าม จึงมีการศึกษาพบว่าวันเคิร์ฟไฟล้นมีความต้านทานการหักสูงกว่าไฟล้นิกเกิลไทเทเนียมแบบธรรมดา หรือไฟล้นที่โลหะถูกปรับสภาพด้วยอุณหภูมิในบางยี่ห้อ³³

ค่าจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหักของไฮเฟลกซ์อีทีเอ็มไฟล้น พบว่า มีค่าสูงที่สุดในคลองรากจำลองหนึ่งความโค้ง และในคลองรากจำลองสองความโค้ง พบว่ามีค่าสูงเป็นอันดับสองรองลงมาจากรีเซพรอกบลูไฟล้น ซึ่งผลที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สาเหตุที่ไฮเฟลกซ์อีทีเอ็มไฟล้นมีความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนสูง เนื่องจากโลหะถูกผลิตด้วยกระบวนการกัดเซาะโลหะด้วยตัวนำไฟฟ้า (electro-discharge machining: EDM) ซึ่งกระบวนการนี้ทำให้โลหะมีความยืดหยุ่นสูง เพิ่มการต้านทานการแตกหักได้ดีขึ้น และไฟล้นยังเป็นชนิดซีเอ็ม ไวร์ ที่มีความยืดหยุ่นดี สามารถจดจำรูปร่างและไม่เกิดการติดตัวกลับขณะขยายคลองราก^{11,12,29}

จากการศึกษาปัจจุบัน พบว่า เรซิพรอกบลูไฟล้นมีความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนสูงกว่าเวฟวันโกลด์ไฟล้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งในคลองรากจำลองหนึ่งความโค้งและสองความโค้ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า^{11,19,34} Gündogar and Özyürek¹¹ เชื่อว่าหน้าตัดของเรซิพรอกบลูไฟล้นที่ถูกออกแบบให้หน้าตัดเป็นรูปตัวเอส (S-shaped) และกระบวนการบลูฮีททรีตเมนต์ (Blue heat-treated instruments) ทำให้ไฟล้นมีความต้านทานการหักได้ดีกว่าเวฟวันโกลด์ไฟล้น

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหักในคลองรากจำลองสองความโค้ง กลับพบว่า เรซิพรอกบลูไฟล้นมีค่าสูงที่สุด ตามด้วยไฮเฟลกซ์อีทีเอ็มไฟล้น และเวฟวันโกลด์ไฟล้น ซึ่งเป็นผลมาจากระบบการหมุนของไฟล้นแบบไปกลับที่ช่วยไม่ให้ไฟล้นติดแน่นกับคลองราก Neelakantan *et al.*³⁵ ได้ทำการเปรียบเทียบความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนของวันเซปไฟล้น

ซึ่งมีระบบการหมุนของไฟล์แบบทางเดียวไม่ย้อนกลับ และเรซิพรอคไฟล์ที่มีระบบการหมุนของไฟล์แบบไปกลับ ในคลองรากจำลอง ที่มีสองความโค้งด้วยวิธีพลวัตและอพลวัต ผลการศึกษาพบว่า เรซิพรอคไฟล์มีจำนวนรอบในการหมุนจนกระทั่งเครื่องมือหักสูงกว่าวันซ์ไฟล์ทั้งการทดสอบด้วยวิธีพลวัตและอพลวัต

การศึกษานี้เลือกทดสอบด้วยวิธีอพลวัต (static) ถึงแม้ว่าการทดสอบด้วยวิธีพลวัต (dynamic) จะเป็นการจำลองวิธีใช้ไฟล์ในการรักษาจริง แต่การทดสอบด้วยวิธีอพลวัตจะเป็นการจำลองการทำงานของไฟล์ที่ใช้ในคลองรากตลอดเวลา และทำให้เกิดหน่วยแรงดัด (flexural stress) ได้สูงที่สุดที่ตำแหน่งศูนย์กลางความโค้งของคลองราก ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างจุลภาค (microstructure) ของไฟล์²² ผลการทดสอบที่ได้เป็นค่าการใช้งานจนกระทั่งไฟล์เกิดการล้าเนื่องจากการหมุนหรือจากการบิด ช่วยให้ประเมินอายุการใช้งานของไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมได้อย่างเหมาะสมเพื่อป้องกันการหักของเครื่องมือในคลองรากได้ จึงนิยมใช้เป็นวิธีหลักในการทดสอบ

เมื่อนำไฟล์ไปตรวจสอบหลังจากการหักภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า หน้าตัดไฟล์มีบริเวณที่เป็นจุดเริ่มต้นของการหัก ซึ่งเป็นตำแหน่งของขอบคมมีด แล้วแพร่ออกไปจนกระทั่งเกิดรอยแตก ซึ่งเป็นไปได้จากการที่รูช่องว่างขนาดเล็ก (microvoid) มารวมกันมากจนทำให้เกิดความอ่อนแอของเนื้อโลหะจนเกิดการแตกหัก ซึ่งปรากฏเป็นแอ่งตรงมีหน้าตัดของเครื่องมือ¹⁹ และเมื่อตรวจสอบลักษณะการหักตามชนิดการหักของ Sattapan *et al.*⁴ พบว่า ไฟล์ทุกชนิดไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างที่เกิดการคลายเกลียว หรือเกิดการบิดของเกลียวที่ผิดปกติทางเนื่องจากคลองรากจำลองที่ออกแบบมีขนาดใหญ่กว่าไฟล์จริงประมาณ 0.1 มิลลิเมตร ทำให้ไฟล์หมุนได้อย่างอิสระ ไม่เกิดการยึดติดกับคลองราก การหักของเครื่องมือจึงเป็นการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุน³⁶

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในทางห้องปฏิบัติการโดยใช้แบบจำลองคลองรากฟัน ซึ่งเป็นเพียงการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของไฟล์นิกเกิลไทเทเนียม ไม่สามารถลอกเลียนลักษณะของคลองรากของมนุษย์ที่มีความซับซ้อนในทางคลินิกได้ทั้งหมด จึงหวังว่าการศึกษานี้จะช่วยให้ทันตแพทย์พิจารณาเลือกใช้ไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมได้เหมาะสมในงานขยายคลองรากฟันที่มีความโค้ง ทำให้เกิดประสิทธิภาพในการขยายคลองรากฟันมากที่สุด และลดโอกาสการเกิดไฟล์หัก นอกจากนี้แล้ว การศึกษานี้ให้ผลแตกต่างกับการศึกษาที่ผ่านมา ซึ่งยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัด โดยคาดว่ายังมีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการหักของไฟล์ เช่น การออกแบบรูปร่างและหน้าตัดของไฟล์ ชนิดของโลหะ ความยืดหยุ่นของไฟล์ ค่าอุณหภูมิสิ้นสุดออกสเทนไนต์ และระบบการหมุนของไฟล์ก็มีผลต่อการต้านทานการหักเช่นเดียวกัน จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตต่อไป

สรุปผลการวิจัย

ไฮเฟล็กซ์อีดีเอ็มไฟล์มีความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในคลองรากจำลองหนึ่งความโค้ง และในคลองรากจำลองสองความโค้ง พบว่า เรซิพรอคบลูไฟล์มีความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนสูงที่สุด และวันเคิร์ฟไฟล์มีความต้านทานการหักเนื่องจากการล้าจากการหมุนน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แหล่งทุน: เงินกองทุนวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am* 1974;18(2):269-96.
2. Yared G. Canal preparation using only one Ni-Ti rotary instrument: preliminary observations. *Int Endod J* 2008;41(4):339-44.
3. Parashos P, Messer HH. Rotary NiTi instrument fracture and its consequences. *J Endod* 2006;32(11):1031-43.
4. Sattapan B, Nervo GJ, Palamara JE, Messer HH. Defects in rotary nickel-titanium files after clinical use. *J Endod* 2000;26(3):161-5.
5. Pruett JP, Clement DJ, Carnes Jr DL. Cyclic fatigue testing of nickel-titanium endodontic instruments. *J Endod* 1997;23(2):77-85.
6. Zinelis S, Darabara M, Takase T, Ogane K, Papadimitriou GD. The effect of thermal treatment on the resistance of nickel-titanium rotary files in cyclic fatigue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103(6):843-7.
7. Shen Y, Zhou Hm, Zheng Yf, Peng B, Haapasalo M. Current challenges and concepts of the thermomechanical treatment of nickel-titanium instruments. *J Endod* 2013;39(2):163-72.
8. Peters OA, Gluskin A, Weiss R, Han J. An *in vitro* assessment of the physical properties of novel Hyflex nickel-titanium rotary instruments. *Int Endod J* 2012;45(11):1027-34.
9. De-Deus G, Moreira EJ, Lopes HP, Elias CN. Extended cyclic fatigue life of F2 ProTaper instruments used in reciprocating movement. *Int Endod J* 2010;43(12):1063-8.
10. Varela-Patiño P, Ibañez-Párraga A, Rivas-Mundiña B, Cantatore G, Otero XL, Martín-Biedma B. Alternating versus continuous rotation: a comparative study of the effect on instrument life. *J Endod* 2010;36(1):157-9.
11. Gundogar M, Ozyurek T. Cyclic Fatigue Resistance of OneShape, HyFlex EDM, WaveOne Gold, and Reciproc Blue Nickel-titanium Instruments. *J Endod* 2017;43(7):1192-6.
12. Pedullà E, Savio FL, Boninelli S, Plotino G, Grande NM, La Rosa G, *et al.* Torsional and cyclic fatigue resistance of a new nickel-titanium instrument manufactured by electrical discharge machining. *J Endod* 2016;42(1):156-9.
13. Serafin M, De Biasi M, Franco V, Angerame D. *In vitro* comparison

of cyclic fatigue resistance of two rotary single-file endodontic systems: OneCurve versus OneShape. *Odontology* 2019;107(2):196-201.

14. Micro-Mega. The One Curve Brochure [online] 2018 [cited eptember 25, 2019]. Available from: <https://www.micro-mega.com/wp-content/uploads/2018/03/Brochure-One-Curve-EN-PRINT.pdf>

15. Plotino G, Grande NM, Cordaro M, Testarelli L, Gambarini G. A review of cyclic fatigue testing of nickel-titanium rotary instruments. *J Endod* 2009;35(11):1469-76.

16. Al-Sudani D, Grande NM, Plotino G, Pompa G, Di Carlo S, Testarelli L, *et al.* Cyclic fatigue of nickel-titanium rotary instruments in a double (S-shaped) simulated curvature. *J Endod* 2012;38(7):987-9.

17. Kim HC, Kwak SW, Cheung GSP, Ko DH, Chung SM, Lee W. Cyclic fatigue and torsional resistance of two new nickel-titanium instruments used in reciprocation motion: Reciproc versus WaveOne. *J Endod* 2012;38(4):541-4.

18. Arens FC, Hoen MM, Steiman HR, Dietz GC, Jr. Evaluation of single-use rotary nickel-titanium instruments. *J Endod* 2003;29(10):664-6.

19. Al-Obaida MI, Merdad K, Alanazi MS, Altwaijry H, AlFaraj M, Alkhamis AA, *et al.* Comparison of cyclic fatigue resistance of 5 heat-treated nickel-titanium reciprocating systems in canals with single and double curvatures. *J Endod* 2019;45(10):1237-41.

20. Parashos P, Gordon I, Messer HH. Factors influencing defects of rotary nickel-titanium endodontic instruments after clinical use. *J Endod* 2004;30(10):722-5.

21. Spili P, Parashos P, Messer HH. The impact of instrument fracture on outcome of endodontic treatment. *J Endod* 2005;31(12):845-50.

22. Ruiz-Sánchez C, Faus-Llácer V, Faus-Matoses I, Zubizarreta-Macho Á, Sauro S, Faus-Matoses V. The Influence of NiTi Alloy on the Cyclic Fatigue Resistance of Endodontic Files. *J Clin Med* 2020;9(11):3755.

23. Jamleh A, Yahata Y, Ebihara A, Atmeh AR, Bakhsh T, Suda H. Performance of NiTi endodontic instrument under different temperatures. *Odontology* 2016;104(3):324-8.

24. De Vasconcelos RA, Murphy S, Carvalho CAT, Govindjee RG, Govindjee S, Peters OA. Evidence for reduced fatigue resistance of contemporary rotary instruments exposed to body temperature. *J Endod* 2016;42(5):782-7.

25. Dosanjh A, Paurazas S, Askar M. The effect of temperature on

cyclic fatigue of nickel-titanium rotary endodontic instruments. *J Endod* 2017;43(5):823-6.

26. Grande NM, Plotino G, Silla E, Pedullà E, DeDeus G, Gambarini G, *et al.* Environmental temperature drastically affects flexural fatigue resistance of nickel-titanium rotary files. *J Endod* 2017;43(7):1157-60.

27. Shen Y, Huang X, Wang Z, Wei X, Haapasalo M. Low environmental temperature influences the fatigue resistance of nickel-titanium files. *J Endod* 2018;44(4):626-9.

28. Yao JH, Schwartz SA, Beeson TJ. Cyclic fatigue of three types of rotary nickel-titanium files in a dynamic model. *J Endod* 2006;32(1):55-7.

29. Pirani C, Iacono F, Generali L, Sassatelli P, Nucci C, Lusvardi L, *et al.* HyFlex EDM: superficial features, metallurgical analysis and fatigue resistance of innovative electro discharge machined NiTi rotary instruments. *Int Endod J* 2016;49(5):483-93.

30. De-Deus G, Vieira VTL, da Silva EJM, Lopes H, Elias CN, Moreira EJ. Bending resistance and dynamic and static cyclic fatigue life of Reciproc and WaveOne large instruments. *J Endod* 2014;40(4):575-9.

31. Lopes HP, Elias CN, Vieira MV, Vieira VT, de Souza LC, Dos Santos AL. Influence of surface roughness on the fatigue life of nickel-titanium rotary endodontic instruments. *J Endod* 2016;42(6):965-8.

32. Rashad MM, Ali AH, Ibraheem AF. Cyclic Fatigue Resistance of One Curve, Hyflex EDM and Neolix NiTi Files in Simulated Curved Canals. *Indian J. Public Health* 2020;11(02):2497.

33. Elnaghy AM, Elsaka SE. Cyclic Fatigue Resistance of One Curve, 2Shape, ProFile Vortex, Vortex Blue, and RaCe Nickel-Titanium Rotary Instruments in Single and Double Curvature Canals. *J Endod* 2018;44(11):1725-30.

34. Keskin C, Inan U, Demiral M, Keleş A. Cyclic fatigue resistance of Reciproc Blue, Reciproc, and WaveOne Gold reciprocating instruments. *J Endod* 2017;43(8):1360-3.

35. Neelakantan P, Reddy P, Gutmann JL. Cyclic fatigue of two different single files with varying kinematics in a simulated double-curved canal. *J Investig Clin Dent* 2016;7(3):272-7.

36. Plotino G, Grande NM, Mazza C, Petrovic R, Testarelli L, Gambarini G. Influence of size and taper of artificial canals on the trajectory of NiTi rotary instruments in cyclic fatigue studies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109(1): e60-e6.

Prevalence of *Enterococcus faecalis* and Association with Clinical Characteristics in Teeth Requiring Endodontic Retreatment

Sopida Thipung^{1,2}, Anchana Panichuttra¹, Chootima Ratisoonporn¹, Somsinee Pimkhaokham¹, Oranart Matangkasombut^{3,4}

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

²Maesot Hospital, Tak, Thailand

³Department of Microbiology and Center of Excellence on oral microbiology and immunology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

⁴Research Laboratory of Biotechnology, Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand

Abstract

This study aimed to determine the prevalence of *Enterococcus faecalis* in root canal-treated teeth requiring retreatment and investigate its relationship with clinical parameters and the capacity for biofilm formation. Clinical samples (N=41) from previously root canal-filled teeth that required retreatment were collected using paper points for culture and polymerase chain reaction assay to detect *Enterococcus faecalis*. Clinical and radiographical examinations were performed to assess signs and symptoms, periapical lesions, quality of previous root filling and coronal restorations. Data were analyzed with Fisher's Exact test. The prevalence of *Enterococcus faecalis* was 9.8 % and 75.6 % by culture and polymerase chain reaction techniques, respectively. No significant association was observed between clinical parameters and *Enterococcus faecalis* in root canals ($p>0.05$), but *Enterococcus faecalis* was significantly associated with periapical lesion in cases that did not heal ($n=19$, $p=0.035$). In addition, clinical isolates of *Enterococcus faecalis* showed different levels of biofilm formation as examined by crystal violet staining. In conclusion, *Enterococcus faecalis* was frequently detected in root canal-filled teeth that required retreatment and they showed various levels of biofilm forming capacity.

Keywords: Endodontic, *Enterococcus faecalis*, Persistent infection, Retreatment

Received Date: Mar 1, 2022

Revised Date: Mar 22, 2022

Accepted Date: May 2, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.47

Correspondence to:

Anchana Panichuttra, Department of Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.
Tel: 081-830-1786 Email: anchana.p@chula.ac.th

Introduction

Endodontic failures are mainly caused by persistence of microorganisms in the root canal system, activated immune inflammatory response and bone resorption.

Several studies showed that intraradicular infection of the root canal system is the major causes of the endodontic failure.¹

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) has been reported as the most commonly isolated species from root canals with endodontic treatment failure^{2,3}, but was not the dominant species in others.⁴ *E. faecalis* is a non-spore-forming, fermentative, facultative anaerobic Gram-positive coccus.⁵ It can form biofilm on root canal dentin, and is resistant to calcium hydroxide; these may be implicated in endodontic treatment failure.⁶ *In vitro* studies showed that *E. faecalis* could form biofilm on human dentin in starvation conditions.⁷ However, no significant relationship was observed between biofilm formation capability of *E. faecalis* strains and sources of isolates from root canals, oral cavity, or others.⁸ In addition, *E. faecalis* also possesses several virulence factors such as, *ace*, *efaA*, *esp*, *gelE*, *asa* and *asa373*.⁹ Evidence regarding the association of clinical parameters and *E. faecalis* in root-canal-treated teeth and its virulence factors are still limited. It has been suggested that *E. faecalis* may be associated with signs and symptoms, the presence of apical radiolucent lesion, quality of previous root filling and quality of the coronal restoration.^{4,10,11}

Culture-based and molecular techniques have been used to identify microorganisms in cases with endodontic failure. Culture-based techniques have lower sensitivity and could not detect uncultivable phylotypes⁵, while polymerase chain reaction (PCR) is significantly more effective and can detect a higher frequency of *E. faecalis* in the root canal.^{11,12} Recent metagenomic studies identified a plethora of bacterial species in the root canals.¹³ Although *E. faecalis* was not the most predominant species, it has been found at a greater frequency or proportion in secondary/persistent endodontic infection than in primary infection.^{14,15} This suggests that *E. faecalis* may still be a key pathogen in root canals with persistent infection.

Therefore, this study used both culture-based and PCR techniques to investigate the prevalence of *E. faecalis* in root canals requiring retreatment, and examine its relationship with clinical parameters, and the capacity for biofilm formation.

Materials and Methods

Study population

Thirty-five adult patients (41 teeth) who attended the Department of endodontics, Faculty of dentistry, Chulalongkorn University for non-surgical endodontic retreatment were enrolled in the study. The study protocol was approved by the ethics committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand (ref.032/2019) in accordance with the Declaration of Helsinki. All participants gave written informed consent before sample collection.

Inclusion criteria included patients with root-filled single root canal or multirrooted teeth with failed treatment at first or second times as determined on the basis of clinical and radiographic examinations with at least one of the following: persistent signs and/or symptoms, such as pain on palpation, pain on percussion, swelling, pus, or sinus tract opening; radiographic evidence of larger periapical lesion or persistent periapical lesion (endodontic therapy completed more than 4 years); and unsatisfactory root canal obturation, such as underfilled > 2 mm. from the radiographic apex, overfilled, had void, or missed canal in cases required new prosthetic restoration. Exclusion criteria included patients who had antibiotic treatment in the previous three months, tooth with periodontal diseases or had probing depth of > 5 mm., and extreme loss of tooth structure such that the tooth could not be isolated with a rubber dam.

Sample size calculation

The sample size for this study was calculated based on the prevalence of *E. faecalis* in failed endodontic cases by PCR technique according to a previous study¹⁶, which was 77 %. When using the following formula with error (d) = 0.10, Alpha (α) = 0.05, $Z(0.975) = 1.95996$, the sample size was 69.

$$n = \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2 p(1-p)}{d^2}$$

However, due to the limitations on the availability of patients who qualified the eligibility criteria, 41

teeth were included in this study. This resulted in an increase in error rate from 10 to 13 %.

Clinical parameters

Medical and dental history were collected from hospital records, interviews, and clinical and radiographical examinations. The following variables were recorded for each patient: 1) age 2) gender 3) type of tooth 4) absence or presence of the clinical signs and symptoms defined as moderate to severe pain on percussion or palpation or any flare-up 5) absence or presence of periapical lesion 6) size of periapical lesion (the largest dimension in mm) 7) quality of previous root filling which were classified into acceptable and unacceptable (when root canal filling was underfilled > 2 mm from the radiographic apex, overfilled, had void, or missed canal) 8) quality of the coronal restoration which were classified into intact and defective. The intact coronal restorations had adequate seal both clinically and radiographically. In addition, healing of endodontically treated teeth was classified into healed and not healed, based on criteria modified from Friedman and Mor.¹⁷ Teeth with the absence of any clinical signs and symptoms and periapical lesion were classified as healed, while teeth with the presence of any clinical signs and symptoms and/or periapical lesion were classified as not healed.

Sampling procedures

Sample collection was as described previously with minor modifications.¹⁶ Aseptic techniques were used throughout endodontic procedures. Each tooth was isolated by rubber dam and disinfected with 1.5% tincture iodine, followed by 70% alcohol. Access preparation was carried out using sterile burs with only normal saline solution for irrigation until the root filling was exposed. Coronal gutta-percha was removed by using sterile gate-glidden burs and the apical material was removed by using K-files or H-files or both (Dentsply Sirona, Ballaigues, Switzerland) without using any chemical solvent. Working length was determined using radiographs and an apex locator (Dentaport Root ZX, J Morita, Irvine, CA, USA). Then,

the root canal wall was filed by using K-files (Dentsply Sirona, Ballaigues, Switzerland) at working length to at least size 25. At least 3 sterile paper points were introduced to the working length (a level approximately 0.5 mm short of the root apex) for 60 seconds each. In cases of multi-rooted teeth, samples were collected from all root canals and combined. One of these paper points was collected in cryotubes containing TE buffer (ie, 10 mM Tris-HCl and 0.1 mM EDTA; pH, 7.6), placed on ice, and transferred to the laboratory for PCR analysis, while another one was transferred into brain heart infusion broth (BHI broth; HiMedia Laboratories, Mumbai, India) for culture. Subsequently, all patients received complete root canal treatment and final restorations.

Microbiology procedures

Culture techniques for *E. faecalis* identification

The samples in BHI broth were vortexed and the bacterial suspension was plated on Mitis Salivarius Agar (MSA; Difco™ Mitis Salivarius Agar, Becton, Dickinson and Difco, Chicago, IL, USA) and incubated at 37°C for 24 hours. From each plate, dark blue colonies with smooth surfaces were presumed to be *E. faecalis* and were subcultured. The isolated pure cultures were characterized by Gram's staining and biochemical test using sorbitol fermentation and *Streptococcus faecalis* (SF) broth (reagents from HiMedia Laboratories, Mumbai, India).

PCR assay for *E. faecalis* identification

The root canal samples in TE buffer were thawed at 37°C for 10 minutes and vortexed for one minute. The pellets were collected by centrifugation, washed 3 times with 200 µL of MilliQ water, and resuspended in 200 µL of MilliQ water. Then, samples were boiled for 10 minutes, quickly chilled on ice for 5 minutes, and centrifuged at 4°C to remove unbroken cells and large debris. The supernatant was collected and used as the template for PCR amplification.¹⁶

PCR was performed as previously described using *E. faecalis* species-specific primers (EFLF (5'-GTT TAT GCC GCA TGG CAT AAG AG-3' GenBank accession no. Y18293)

and EFLR (5'-CCG TCA GGG GAC GTT CAG-3' GenBank accession no. Y18293) which produce a PCR amplicon of 310 bp^{5,16}; PCR conditions for each primer set were as previously described. The assay was repeated three times and samples with at least 1 positive test result were considered positive.

Biofilm formation assay

Biofilm formation assay was performed as previously described.^{8,18,19} *E. faecalis* (ATCC29212) and *E. faecalis* clinical isolates (E1-E4) were cultivated overnight in Tryptic Soy Broth (TSB; HiMedia Laboratories, Mumbai, India) at 37 °C, adjusted to give the final optical density at wave length 600 nm (OD_{600}) of 0.1, and incubated until log phase (OD_{600} = 0.4-0.6). The cultures were adjusted to approximately 10^7 CFU/ml and inoculated into at 1:100 ratio in 200 µl of TSBG (TSB with 0.25% glucose) in 96-well polystyrene microtiter plates. TSBG alone was used as a negative control. After 24 hours of incubation at 37 °C, the supernatant was carefully discarded by using a micro-pipette, and plates were washed with distilled water to remove unattached cells. Biofilms were fixed with 100 µl of 70% methanol for 30 minutes, stained with 100 µL of 1% crystal violet solution in water for 15 minutes, and subsequently washed with distilled water. The dye was extracted with 100 µL of 30% acetic acid for 10 minutes. The optical density at 570 nm (OD_{570}) was measured by using a microtiter plate reader (Bio-Tek, USA). The assay was performed in duplicates and repeated three times. The capacity of biofilm formation of each clinical isolate was calculated into percentage relative to that of *E. faecalis* ATCC29212.

Statistical Analysis

Fisher's Exact Test was used to assess the relationship between the prevalence of *E. faecalis* and clinical parameters. All analyses were performed with IBM SPSS statistics for windows, version 22.0 (IBM, Armonk, NY). A P-value of < 0.05 was considered statistically significant.

Results

A total of 41 samples were collected from 35 patients, 9 males and 26 females, with an age range of 19-74 years (mean, 49.4 ± 17.3 years). Among the 41 samples, 25 were anterior teeth, 13 were premolars and 3 were molars. The teeth were diagnosed as previously treated with normal apical tissue (n=22), asymptomatic apical periodontitis (n=15), symptomatic apical periodontitis (n=3) or chronic apical abscess (n=1). The reasons for retreatment were persistent signs and/or symptoms (n=4), such as pain on palpation, pain on percussion, or sinus tract opening; radiographic evidence of persistent periapical lesion or larger periapical lesion (n=17); unsatisfactory root canal obturation (n=33), such as underfilled > 2 mm from the radiographic apex, had void, or missed canal; and unsatisfactory coronal restoration (n=21), such as leakage in cases requiring new prosthetic restorations.

The prevalence of *E. faecalis* was 9.8 % (4 in 41 teeth) and 75.6 % (31 in 41 teeth) by culture and PCR techniques, respectively. The relationship between *E. faecalis* (as detected by PCR) and clinical parameters is shown in Table 1. When compared to cases without *E. faecalis*, a higher proportion of cases with *E. faecalis* had periapical lesions (48 % vs. 20 %) and had defective coronal restorations (58 % vs. 30 %), but the differences were not statistically significant ($p>0.05$). Other clinical parameters, including presence of signs and symptoms, size of periapical lesion in radiographs (in cases with periapical lesion, N=17), quality of previous root filling, and healing after endodontic treatment were not significantly associated with the presence of *E. faecalis* in the root canals ($p>0.05$). Interestingly, when we performed subgroup analysis in cases that did not heal as shown in Table 2 (n=19), we observed a significant association between *E. faecalis* and periapical lesion ($p=0.035$). The calculated prevalence ratio was 2.0 with 95% confidence interval of 0.75-5.33 ($p=0.16$).

Table 1 Relationship of prevalence of *Enterococcus faecalis* and clinical parameters

Clinical Parameters	<i>Enterococcus faecalis</i> (by PCR)		<i>P</i> -value ^a	<i>Enterococcus faecalis</i> (by culture)
	Yes (n=31) % (n)	No (n=10) % (n)		Yes (n=4) % (n)
Clinical signs and/or symptoms				
Yes (n=4)	6.5 (2)	20 (2)	0.245	0 (0)
No (n=37)	93.5 (29)	80 (8)		100 (4)
Periapical lesion				
yes (n=17)	48.4 (15)	20 (2)	0.152	50 (2)
No (n=24)	51.6 (16)	80 (8)		50 (2)
Size of periapical lesion (N=17)				
< 5 mm (n=13)	73.3 (11)	100 (2)	1.000	50 (1)
≥ 5 mm (n=4)	26.7 (4)	0 (0)		50 (1)
Quality of previous root filling				
acceptable (n=8)	19.4 (6)	20 (2)	1.000	0 (0)
unacceptable (n=33)	80.6 (25)	80 (8)		100 (4)
Quality of the coronal restoration				
intact (n=20)	41.9 (13)	70 (7)	0.159	25 (1)
defective (n=21)	58.1 (18)	30 (3)		75 (3)
Healing				
healed (n=22)	51.6 (16)	60 (6)	0.727	50 (2)
not healed (n=19)	48.4 (15)	40 (4)		50 (2)

^aFisher's Exact Test

Table 2 Relationship of clinical characteristics and prevalence of *Enterococcus faecalis* in cases that did not heal (n=19)

Clinical Parameters	<i>Enterococcus faecalis</i> (by PCR)		<i>P</i> -value ^a
	Yes (n=15) % (n)	No (n=4) % (n)	
Clinical signs and/or symptoms			
Yes (n=4)	13.3 (2)	50 (2)	0.178
No (n=15)	86.7 (13)	50 (2)	
Periapical lesion			
Yes (n=17)	100 (15)	50 (2)	0.035*
No (n=2)	0 (0)	50 (2)	
Size of periapical lesion (N=17)			
< 5 mm (n=13)	73.3 (11)	100 (2)	1.000
≥ 5 mm (n=4)	26.7 (4)	0 (0)	
Quality of previous root filling			
Acceptable (n=5)	20 (3)	50 (2)	0.272
Unacceptable (n=14)	80 (12)	50 (2)	
Quality of the coronal restoration			
Intact (n=11)	46.7 (7)	100 (4)	0.103
Defective (n=8)	53.3 (8)	0 (0)	

^aFisher's Exact Test

*Statistically significant difference ($P < 0.05$)

E. faecalis was detected in only four samples using culture methods (Table 1). None of the teeth had any clinical signs and symptoms, but all of the teeth had inadequate root canal filling (underfilled > 2mm. and had void). Two of these samples had periapical lesions of 3 mm and 7 mm in diameter, while the other two were healed with no sign or symptom. Three of these samples had defective coronal restorations (leakage).

To investigate their potential capability for colonization, the four *E. faecalis* isolates were tested for biofilm formation by crystal violet staining assay. The percentage of biofilm mass formed by each of these isolates relative to that of *E. faecalis* ATCC29212, a standard laboratory strain control, is shown in Figure 1. Among these isolates, E3 had the highest biofilm mass (35.9 %±16.5 %), followed by E1 (27.4 %±7.1 %), while E2 and E4 showed similar levels of biofilm formation (10.3 %±2.8 %, 10.1 %±4.7 %, respectively). Interestingly, the isolate with the highest biofilm formation, E3, was the only one isolated from a tooth with intact coronal restoration.

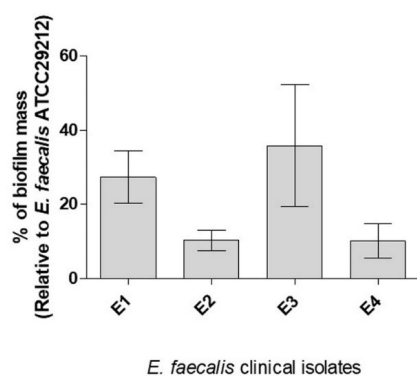


Figure 1 Average percentage of biofilm formation of *Enterococcus faecalis* clinical isolates (E1-E4) relative to that of a standard laboratory strain (ATCC29212)

Discussion

In this study, we detected *E. faecalis* in 9.8 % and 75.6 % of endodontically treated teeth requiring retreatment by culture and PCR techniques, respectively. No statistically significant association was observed between *E. faecalis* and any clinical parameters. However, among cases that did not heal, *E. faecalis* was associated with persistent periapical lesion.

In previous reports, the prevalence of *E. faecalis* in root canals with endodontic treatment failure and persistent intra-radicular infection ranged from 30 % to 76 %.^{2,3,12} The differences in prevalence among studies were likely attributed to many factors including differences in study population, geographical locations, case selection, sample collection, and detection methods. While previous studies included only root-canal-treated teeth with periapical lesion^{2,3} or asymptomatic teeth², this study examined both root-canal-treated teeth with and without periapical lesion, and both with and without symptoms. Recent metagenomic studies detected a wide variety of bacteria in the root canals with primary and/or secondary/persistent infections, with Gram negative bacteria such as *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas* among the most abundant.^{15,20} Although *E. faecalis* was observed in relatively low abundance, certain studies showed that *E. faecalis* was detected more frequently or at higher proportion in secondary or persistent infection.^{15,20,21} Thus, *E. faecalis* may still play a role in persistent infection. In addition, *Enterococcus* is commonly found in teeth with intact coronal restorations suggesting that it may persist in the treated root canals.²¹

Several studies showed that instrumentation and medication cannot completely remove microbial infection from the root canal system.^{22,23} The remaining microorganisms, especially those that are able to attach to the root canal dentin and form biofilm, may persist in ramifications, lateral canals, isthmuses, irregular areas or dentinal tubules.²⁴ *E. faecalis* has the ability to form biofilm, penetrate into dentinal tubules, resist to medication, and survive in low nutrient conditions.¹⁶ They may persist in a viable, but noncultivable (VBNC) state²⁵; this may be a reason why we could detect *E. faecalis* much more effectively using PCR than by culture. However, molecular techniques could also detect non-viable cells or free DNA, which do not play a role in pathogenesis.²⁶ Although molecular techniques are highly sensitive and allow us to examine the presence of multiple microorganisms, including unculturable species, they could not give an information on viability or

activity of the microorganisms that may contribute to pathogenesis.²⁷ This limitation may be overcome by meta-transcriptomics and metabolomics studies in the future.

E. faecalis can form dense aggregates or biofilm in root canals.^{6,27} *E. faecalis* is capable of producing several virulence factors in the root canal system that enhance adhesion, colonization and biofilm formation. The virulence genes of *E. faecalis* detected in teeth with treatment failure included *ace*, *efaA*, *esp*, *gelE*, *asa* and *asa373*.⁹ It was suggested that biofilm formation and extracellular material (ECM) may increase resistance to environmental stresses.²⁸ In addition, biofilms are significantly associated with large lesions and cysts.²⁹ Our results showed that different clinical isolates of *E. faecalis* showed different levels of biofilm formation. This may affect their ability to colonize the root canals. Of note, the clinical strain with the highest biofilm mass was isolated from a tooth with intact coronal restoration but with unacceptable quality of previous root filling (void), while the other strains were from teeth with defective restorations. This may imply that the bacteria with high biofilm formation may have persisted from previous treatment. However, due to small sample size, we could not make a conclusion on the association between biofilm formation and clinical parameters, and further studies are needed.

The relationships between *E. faecalis* and clinical parameters in root-filled teeth are still inconclusive.^{4,10,11} While Kaufman and colleagues showed that *Enterococcus* spp. significantly associated with the presence of periapical lesion¹⁰, others did not observe such association.¹¹ In our study, we found a significant association between *E. faecalis* and periapical lesion only among cases that did not heal (Table 2). However, due to the small sample size, when we calculated the prevalence ratio, the confidence interval was too wide and did not reach statistical significance. Thus, further studies are needed to verify this finding. Another limitation of this study is that we had to use files to remove existing root canal filling materials before sample collection; this may inadvertently remove some of the bacteria in the root canals. In addition, a complex

community of microorganisms likely contributes to persistent infection, and it was suggested that large periapical lesions correlated with higher counts of gram-negative rod species.^{4,13} Besides, viruses and fungi have also been associated with endodontic infection.³⁰ Therefore, the role of multi-species biofilm in persistent infection and relations to clinical parameters should be considered in future investigations.

Conclusion

E. faecalis was detected in approximately 76 % of root canal-treated teeth that required retreatment, using PCR analysis. While *E. faecalis* was not significantly associated with any clinical parameters, it was significantly associated with periapical lesion among cases that did not heal. Clinical strains of *E. faecalis* showed different levels of capability for biofilm formation.

Acknowledgement

This work was supported by Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund (Center of Excellence on oral microbiology and immunology). We would like to thank all the participants in this study and members of the center of excellence on oral microbiology and immunology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University for generous assistance.

Conflicts of interest : All authors declare no conflict of interest.

References

1. Nair PNR. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J* 2006;39(4):249-81.
2. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod* 2000;26(10):593-5.
3. Hancock HH, 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;91(5):579-86.
4. Murad CF, Sassone LM, Faveri M, Hirata R, Jr., Figueiredo L, Feres M. Microbial diversity in persistent root canal infections investigated by checkerboard DNA-DNA hybridization. *J Endod* 2014;40(7):899-906.
5. Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 2004;30(5):315-20.

6. Siqueira JF, Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J* 2001;34:1-10.
7. Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X. Biofilm formation capability of *Enterococcus faecalis* cells in starvation phase and its susceptibility to sodium hypochlorite. *J Endod* 2010;36(4):630-5.
8. Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2007;33:815-8.
9. Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, Gomes BP. Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Virulence Genes of *Enterococcus faecalis* Isolates from Teeth with Failure of the Endodontic Treatment. *J Endod* 2016;42(7):1022-8.
10. Kaufman B, Spangberg L, Barry J, Fouad AF. *Enterococcus spp.* in endodontically treated teeth with and without periradicular lesions. *J Endod* 2005;31(12):851-6.
11. Zoletti GO, Siqueira JF, Jr., Santos KR. Identification of *Enterococcus faecalis* in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches. *J Endod* 2006;32(8):722-6.
12. Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, *et al.* Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102(2):247-53.
13. Sánchez-Sanhueza G, Bello-Toledo H, González-Rocha G, Gonçalves AT, Valenzuela V, Gallardo-Escárate C. Metagenomic study of bacterial microbiota in persistent endodontic infections using Next-generation sequencing. *Int Endod J* 2018;51(12):1336-48.
14. Bouillaguet S, Manoel D, Girard M, Louis J, Gaia N, Leo S, *et al.* Root Microbiota in Primary and Secondary Apical Periodontitis. *Front Microbiol* 2018;9:2374.
15. Keskin C, Demiryürek E, Onuk EE. Pyrosequencing Analysis of Cryogenically Ground Samples from Primary and Secondary/Persistent Endodontic Infections. *J Endod* 2017;43(8):1309-16.
16. Siqueira JF, Jr., Rôças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97(1):85-94.
17. Friedman S, Mor C. The success of endodontic therapy--healing and functionality. *J Calif Dent Assoc* 2004;32(6):493-503.
18. Zheng JX, Bai B, Lin ZW, Pu ZY, Yao WM, Chen Z, *et al.* Characterization of biofilm formation by *Enterococcus faecalis* isolates derived from urinary tract infections in China. *J Med Microbiol* 2018;67(1):60-7.
19. Mohamed JA, Huang W, Nallapareddy SR, Teng F, Murray BE. Influence of origin of isolates, especially endocarditis isolates, and various genes on biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun* 2004;72(6):3658-63.
20. Bronzato JD, Bomfim RA, Hayasida GZP, Cúri M, Estrela C, Paster BJ, *et al.* Analysis of microorganisms in periapical lesions: A systematic review and meta-analysis. *Arch Oral Biol* 2021;124:105055.
21. Zandi H, Kristoffersen AK, Ørstavik D, Rôças IN, Siqueira JF, Jr., Enersen M. Microbial Analysis of Endodontic Infections in Root-filled Teeth with Apical Periodontitis before and after Irrigation Using Pyrosequencing. *J Endod* 2018;44(3):372-8.
22. Sakamoto M, Siqueira JF, Jr., Rôças IN, Benno Y. Bacterial reduction and persistence after endodontic treatment procedures. *Oral Microbiol Immunol* 2007;22(1):19-23.
23. Tang G, Samaranayake LP, Yip HK. Molecular evaluation of residual endodontic microorganisms after instrumentation, irrigation and medication with either calcium hydroxide or Septomixine. *Oral Dis* 2004;10(6):389-97.
24. Ricucci D, Siqueira JF, Jr., Bate AL, Pitt Ford TR. Histologic investigation of root canal-treated teeth with apical periodontitis: a retrospective study from twenty-four patients. *J Endod* 2009;35(4):493-502.
25. Figdor D, Davies JK, Sundqvist G. Starvation survival, growth and recovery of *Enterococcus faecalis* in human serum. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18(4):234-9.
26. Spratt DA. Significance of bacterial identification by molecular biology methods. *Endodontic Topics* 2004;9(1):5-14.
27. Abusrewil S, Alshanta OA, Albashaireh K, Alqahtani S, Nile CJ, Scott JA, *et al.* Detection, treatment and prevention of endodontic biofilm infections: what's new in 2020?. *Crit Rev Microbiol* 2020;46(2):194-212.
28. Yoo A, Rossi-Fedeles G, Kidd SP, Rogers AH, Zilm PS. Association between Extracellular Material and Biofilm Formation in Response to Sodium Hypochlorite by Clinical Isolates of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2018;44(2):269-73.
29. Ricucci D, Siqueira JF, Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod* 2010;36(8):1277-88.
30. Mergoni G, Percudani D, Lodi G, Bertani P, Manfredi M. Prevalence of *Candida* Species in Endodontic Infections: Systematic Review and Meta-analysis. *J Endod* 2018;44(11):1616-25.e9.

Comparison of the 3D Accuracy between Digital and Conventional Impressions in Full Arch Multi-unit Implants at Implant and Abutment Levels: An *in-vitro* Study

Ataya Chinwongs¹, Pravej Serichetapongse¹

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

Abstract

The purpose of this study was to compare the accuracy of digital and conventional impression techniques for multiple implants in edentulous areas at different impression levels: the implant and abutment levels. An edentulous mandibular model with five dental implants was fabricated to serve as a reference model (three anterior straight and two posterior angulated implants). Forty impressions were made at the implant and abutment levels using digital and conventional techniques (four cast groups, $n = 10$ each). Digital impressions were taken with an intraoral scanner. The custom open-tray splinted-impression coping technique was used for the conventional impression. All reference models and working casts were digitized to STL files using a high-resolution laboratory scanner, and the 3D-distances and angulations were measured using PolyWork software for assessing displacement from references. Two-way repeated-measures ANOVA was used to examine the differences between levels of impression and impression techniques and their interactions ($\alpha=.05$). The Bonferroni post-hoc test and Wilcoxon-sign rank test were used to test differences in accuracy and precision between digital and conventional techniques ($\alpha=.05$), and the results showed that significant differences were found between the level of impression, impression techniques, and their mutual interaction. For 3D-distance displacement, the implant level-digital impression showed lower trueness values than conventional impression overall ($P<0.001$). For angulation displacement, there was a significant difference in the conventional-implant level impression group ($P=0.003$). Overall, no differences were found between the reference model and the two techniques at the abutment level impressions ($P=0.508, 1.000$). In conclusion, impression techniques and levels of impression affected the transfer accuracy. The abutment level impression with the open-tray conventional technique was more accurate than the digital technique, while the digital technique demonstrated superior outcome in angulation transfer for angulated implants at implant-level impressions. However, the total distance and angulation displacement with both techniques were clinically acceptable.

Keywords: Accuracy, Conventional impression, Dental implant, Digital impression, Impression level

Received Date: Feb 11, 2022

Revised Date: Mar 9, 2022

Accepted Date: Apr 25, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.48

Correspondence to:

Ataya Chinwongs, Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, 34 Henri-Dunant Road, Wangmai, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand Tel : 66-0-876873987 Email : ataya.chinwongs@gmail.com

Introduction

The passive fit of implant framework restorations is a major factor affecting the longevity of implant-supported restorations.^{1,2} Ill-fitting prosthesis frameworks can lead

to mechanical and biological complications.^{3,4} Impression techniques affect the accuracy of the dental implant position and angulation in the master cast.⁵ The conventional

open-tray and splinted-coping abutment technique was reported to be the most accurate method for multi-unit implant restorations.^{6,7} However, these techniques require more laboratory steps which lead to lengthier production times and potentially more errors. One such error occurs with the use of pour-up stone models due to linear setting expansion and volumetric shrinkage of materials during the nucleation and growth of the crystalline phases of dental stone. The use of type I dental stone while mounting the cast in the articulator also creates some occlusal discrepancy.⁸

Digital impressions can simplify and improve the impression process. The use of digital impressions has gained more popularity due to the production of comparable precise models and reduction of the workflow process.^{9,10} Digital impressions with bite registration are created as surface images using an intraoral scanner to position the dental implants. These images are then sent as a standard tessellation language (STL) file to the laboratory. With this workflow, the dentist can omit the use of conventional steps such as making a silicone impression, preparing the stone model, mounting the casts, and shipping the models and articulators to a laboratory.^{11,12} Moreover, the current COVID-19 pandemic brings a risk of virus transmission from the dental clinic to the laboratory when using conventional impression techniques.^{13,14,15}

For full arch implant-supported restorations, the impression procedure can be performed at the implant or the abutment level, as described by several authors.^{16,17} The abutment level impression has been commonly utilized for correcting the angulation of tilted dental implants.^{16,17} Multi-unit abutments not only minimize angulation discrepancies, but also eliminate the adaptability component in impression coping, reducing the possibility of impression material deformation during removal.^{18,19} Dental implant companies provide both conventional impression copings and scan bodies for abutment level impressions.

Recent studies have compared conventional and digital impressions only at implant levels.^{9,10,20-22} This study aimed to investigate the effects of the type and level of the impression technique used on the accuracy of the implant impression and master casts in multi-unit restorations by using three-dimensional (3D) measuring

techniques. The null hypothesis was that two different impression techniques and levels of impressions would not affect the transfer accuracy of impressions.

Materials and Methods

The procedure for reference model fabrication

A completely edentulous mandibular model was selected as the reference model (IMP1006-L-SP; Nissin, Kyoto, Japan) (Fig. 1a). Cone-beam computed tomography was utilized to obtain a DICOM file from the model. A surface scan was conducted by a desktop scanner (Ceramill map600; Amann Girrbach AG, Koblach, Austria) to produce STL files from the model. Then, both the DICOM and the STL files were transferred into an implant-planning software program (DTX STUDIO; Nobel Biocare, Zurich, Switzerland) to plan the placement of five dental implants. Bone-level implants (Nobel replace RP, diameter 4.3 mm, length 13 mm) were selected. The median three implants were perpendicular to the occlusal plane and parallel to one another, whereas the two posterior implants (teeth no. 35, 45) were angled 30° distally. The surgical template was then designed and fabricated by a printing machine (NextDent 5100; Amann Girrbach AG, Koblach, Austria) (Fig. 1b).

The five dental implants were placed using a surgical guiding template. After implant placement, three calibrated spherical metal balls (steel balls with diameter 10.0 mm: grade 28 (JIS B 1501, ISO 3290), Sato Tekkou, Osaka, Japan) were fixed to the reference model using self-curing acrylic resin (Unifast III; GC, Tokyo, Japan) to create the reference plane and points for accurate measurement (Fig. 1c).

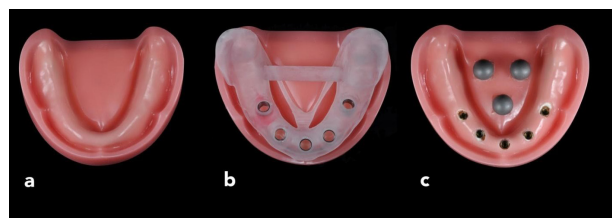


Figure 1 (a) Completely edentulous mandibular model. (b) Surgical template designed and fabricated for implant placement. (c) Five dental implants were placed and three calibrated spherical metal balls were fixed to the reference model to create the reference plane and points

Implant level impression

Conventional implant impression

The open-tray splinted-impression coping technique was utilized. The impression copings (Non-engaging transfer impression coping, Nobel Biocare) were attached to the implant fixtures and tightened with 10 Ncm of torque using a torque wrench. Autopolymerizing acrylic resin (GC Pattern resin LS, GC America, Alsip, USA) was used as a splinting material to create resin bars. After 24 hours, the resin bars were sectioned with a diamond disk and re-connected with a minimal amount of the same material to reduce polymerization shrinkage. Then, they were stored for 24 hours (Fig. 2a). Two layers of baseplate wax (Modeling Wax, Sirona Dentsply, Milford, USA) were placed over the splinted-impression coping to create a 2-mm uniform thickness of impression materials. A custom tray was fabricated using autopolymerizing acrylic resin (Formatray, Kerr Corporation, Orange, CA, USA). Five holes were drilled to provide access to the impression copings, and the tray was left to sit for 48 hours. A line was marked on the reference model and on the external surface of the custom tray for positioning the tray while making the impression. Tray adhesive (3M ESPE, Saint Paul, MN, USA) was applied on the intaglio surface of the custom tray and allowed to dry for ten minutes before making the impression. Polyether impression material (Impregum Penta Soft; 3M ESPE, Saint Paul, MN, USA) was used for making the conventional impressions (Fig. 3a). After completely polymerizing for 12 minutes, the individual trays were removed from the reference model. Implant analogs were connected to the impression copings, followed by cast preparation using low expansion (0.08%) type IV dental stone (Kromotypo 4; Lascod, Florence, Italy), which was mixed in a vacuum machine (171971; Wassermann, Hamberg, Germany) for 30 seconds. The working casts were allowed to set for one hour, following the manufacturer's recommendations, before separating them from the impressions. All the working casts were trimmed, finished, and stored at room temperature for one week before the measurements. Ten

implant-level conventional impressions were made by the same clinician to obtain ten working casts (Fig. 3b).

Digital impression

To create each digital-implant impression, a digital scan body (Non-engaging, 2B-B Elos Accurate IO Nobel Biocare scan body, Elos Medtech AB, Gothenburg, Sweden) was inserted into the dental implants (Fig. 2c). The same scan body was moved from the correlation position in all casts to eliminate any potential interference associated with scan bodies, and then scanned using the intraoral scanner (Trios3; 3Shape, Copenhagen, Denmark). The digital scan continued sequentially, starting from the occlusal aspect of the scan body at the left molar area, continuing to the scan body at the right molar area, then to the lingual aspect of the scan bodies, and finally to their buccal aspect (Fig. 3c). After the scanning procedure, the STL files of all ten digital impressions were transferred to a software program (PolyWorks; Hexagon, Stockholm, Sweden) for measurement (Fig. 3d).

Abutment-level impression

Multi-unit abutments were selected and prepared. For the median three implants, 0° abutments were prepared for making abutment-level impressions, whereas two angulated 30° multi-unit abutments were used for the two posterior implants (Fig. 2b).

Conventional implant impressions

The open-tray splinted-impression coping technique was used, similar to the one used for the implant-level impression. Ten abutment-level conventional impressions were made to obtain ten working casts.

Digital impression

A digital scan body (Non-engaging, 2C-A Elos Accurate IO Nobel Biocare scan body) was inserted into the dental implants. Then, the same scanning procedure described for the implant-level impression was performed to obtain ten STL files (Fig. 2d).

All scans and impressions were obtained by the first author, who has experience in digital scanning and conventional impression (more than 40 pilot scans).

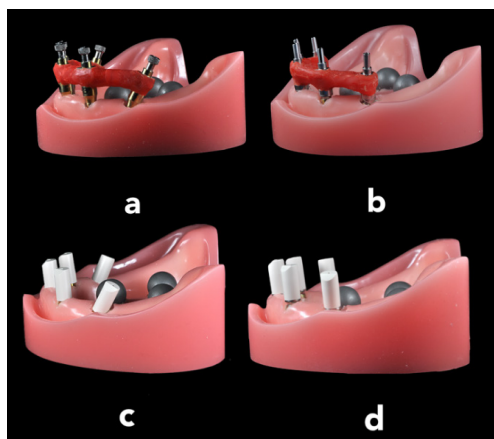


Figure 2 (a) Splinted angulated impression copings in the conventional technique for an implant level impression. (b) Angulation of impression copings of two posterior implants corrected by using multi-unit abutments during an abutment level impression. (c) A digital scan-body inserted for digital impressions at the implant level. (d) The angulation of digital scan-bodies of two posterior implants corrected by using multi-unit abutments for an abutment level impression

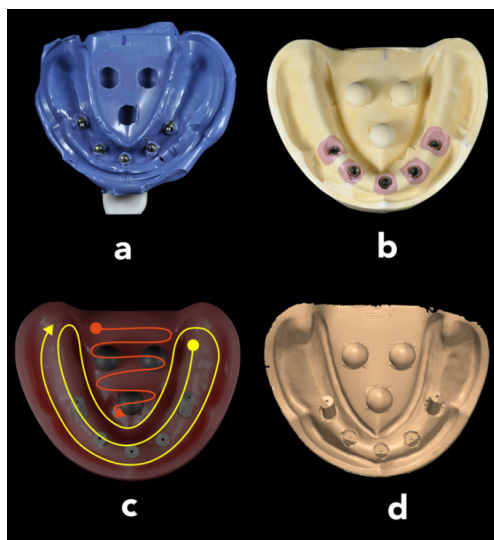


Figure 3 (a) Polyether impression material was used for the open-tray splinted-impression coping technique. (b) Conventional working cast. (c) Digital impression scanning strategy. (d) Digital impression

The measurement procedure

A desktop scanner (Ceramill map600; Amann Girrbach AG, Koblach, Austria) with a manufacturer-specified measurement accuracy of 4 µm was used to digitize the reference model and conventional working casts to create STL files. For digital impressions, the surface scan data obtained from the intraoral scanner were used. All data

were analyzed using the PolyWorks software program. The software's geometric feature was used to determine the virtual three calibrated spherical balls. Each sphere was measured three times in order to calibrate the constant diameter of sphere balls (10 mm) and to create the center point of the spheres. A horizontal reference plane was created by connecting the center points of the three calibrated spherical balls, no. 1 (C1), no. 2 (C2), and no. 3 (C3). A reference point was set at the center between C1 and C2, and the datum axis was created using the C3 line. Implants were numbered from 1 to 5 from the posterior right to the posterior left (Fig. 4a). A cylindrical digital scan body represented the position and angulation of the dental implants. The central axis of the scan body and the perpendicular horizontal plane of the top of the scan body head were identified by the geometric software. The intersection between the central axis and the top plane of the scan body was calibrated to create a virtual implant position point (Fig. 4b). Then, the distances from each implant position point to the reference point were measured to determine the 3D-distance values (Figs 4a, 4b). The angulation of the central axis of the cylindrical scan body to the horizontal reference plane was measured to determine the angulation values (Fig. 4c).

Statistical analysis

The accuracy assessment formula used to calculate trueness and precision values was based on ADA/ANSI Standard No. 132.²³

$$\text{Trueness} = \left| (d_R - d_M) \right|, :$$

Reference value – Measured value

$$\text{Precision} = \left| (d_A - d_M) \right|, :$$

Average of the measured value - Measured value

The mean and standard deviations of the trueness and precision values of each sample group were analyzed using descriptive statistics. The Shapiro-Wilk test was used to check for normality, and this test found that certain raw data did not have a normal distribution. As a result, non-parametric statistics were used. Two-way repeated-measures ANOVA was used to test the differences between

the level and technique of impression methods and their interactions. The Bonferroni post hoc multiple comparison test was used to examine the differences between digital and conventional impression techniques in comparison to reference models in each level of impression. A Wilcoxon

signed-rank test was used to compare the median of precision values between conventional and digital techniques. The level of significance was set at 0.05 (CI: 95%). All statistical analyses were carried out using statistical software (SPSS 16.0, IBM Corp, Armonk, NY, USA).

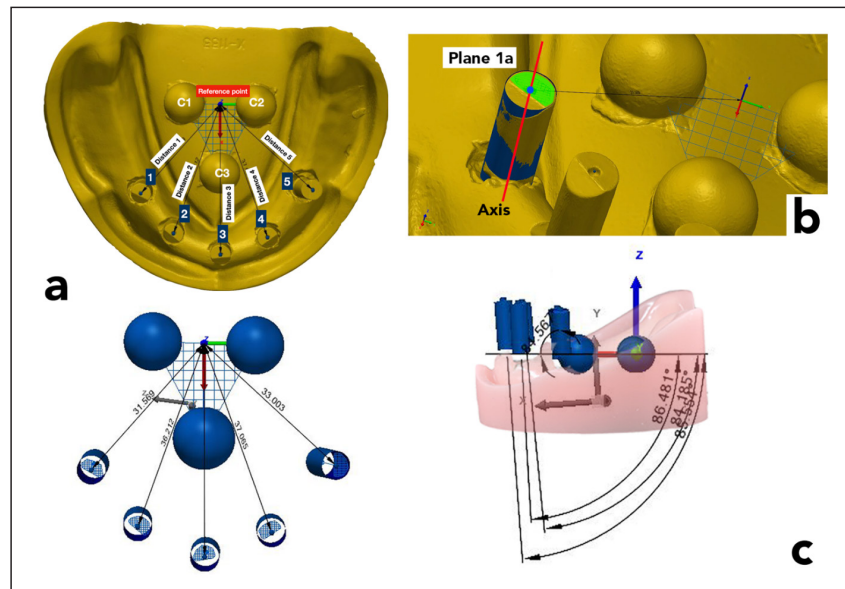


Figure 4 (a) Measurement method to analyze the 3D-distance of dental implants. A horizontal reference plane was created by connecting the center points of the three calibrated spherical balls C1, C2, and C3. A reference point was set at the center between C1 and C2, and the datum axis was created using the C3 line. The individual implant distance is defined as the distance from the reference point to the scan-body point. (b) The scan-body point was created by the intersection between the horizontal plane of the top of the scan body (Plane 1a) and the long axis of the scan body (red arrow). (c) Angulation of implant was measured by the difference between the angulation of the central axis of the scan body and the horizontal reference plane

Results

The mean values, standard deviation values, and precision values of the 3D distances and angulation displacement of the conventional and digital impression techniques compared with the reference model are presented in Tables 1 and 2. The Wilcoxon signed-rank test reported that there was no statistically significant difference between the precision values of conventional and digital techniques ($P=1.000$). The two-way repeated-measures ANOVA between the groups determined a statistically significant difference between the level of impression, the impression techniques, and their interaction (Table 3). Multiple comparisons using the Bonferroni post-hoc test shows that a conventional

impression resulted in more accurate trueness values in 3D-distances than did the digital technique (Table 4) ($P=0.257$ and $P=1.000$). For angular displacement, both techniques showed significant differences from the reference model in different positions. Overall, the digital technique showed superior accuracy in terms of angulation transfer on the implant level, as there was no significant difference from the reference model (Table 5) ($P=0.094$). At the abutment level impression, there was no significant difference between the conventional and digital techniques compared with the reference model in terms of 3D-distance and angulation displacement ($P=1.000$ and $P=0.50$)

Table 1 Mean values \pm standard deviation (SD) of trueness and precision values of 3D-distances displacement (mm)

Implant position	n	Implant level			Abutment level		
		Conventional		Digital	Conventional		Digital
		Trueness	Precision	Trueness	Trueness	Precision	Precision
Overall	40	-0.024 \pm 0.091		-0.137 \pm 0.228*	0.101 \pm 0.250		0.112 \pm 0.252
1 (Tilted)	10	-0.034 \pm 0.052	0.002 \pm 0.049	-0.046 \pm 0.183	0.021 \pm 0.077	0 \pm 0.073	0 \pm 0.070
2	10	-0.032 \pm 0.044	0.003 \pm 0.042	-0.138 \pm 0.224	-0.022 \pm 0.066	0 \pm 0.062	0 \pm 0.074
3	10	-0.033 \pm 0.072	0.019 \pm 0.065	-0.039 \pm 0.232*	-0.049 \pm 0.056*	0 \pm 0.052	0 \pm 0.052
4	10	-0.060 \pm 0.147	0.012 \pm 0.139	-0.097 \pm 0.189	-0.038 \pm 0.071	0 \pm 0.067	0 \pm 0.058
5 (Tilted)	10	0.047 \pm 0.080	0.002 \pm 0.076	-0.023 \pm 0.196	-0.037 \pm 0.045	0 \pm 0.043	-0.087 \pm 0.087*

*P-value <0.05 is significant

For trueness values, the Bonferroni post hoc multiple comparison test * showed a statistically significant difference in trueness values from the reference model

For precision values, the Wilcoxon signed-rank test compared the median of precision values between conventional and digital techniques, and no statistically significant findings were found

Table 2 Mean values \pm standard deviation (SD) of trueness and precision values of Angulation displacement (degree)

Implant position	n	Implant level			Abutment level		
		Conventional		Digital	Conventional		Digital
		Trueness	Precision	Trueness	Trueness	Precision	Precision
Overall	40	-0.207 \pm 0.421*		0.262 \pm 0.836	0.042 \pm 0.210		0.111 \pm 0.858
1 (Tilted)	10	0.147 \pm 0.315	0.016 \pm 0.314	0.140 \pm 0.646	-0.168 \pm 0.258	0 \pm 0.243	-0.838 \pm 0.672
2	10	-0.104 \pm 0.273	0.045 \pm 0.268	0.588 \pm 0.823	0.224 \pm 0.141	0 \pm 0.133	0.549 \pm 0.639
3	10	-0.337 \pm 0.127*	0.021 \pm 0.118	0.335 \pm 0.818	-0.072 \pm 0.054	0 \pm 0.051	0.572 \pm 0.659
4	10	-0.229 \pm 0.662	0.021 \pm 0.627	0.506 \pm 0.887	0.128 \pm 0.174	0 \pm 0.164	0.198 \pm 0.464
5 (Tilted)	10	-0.508 \pm 0.254*	0.006 \pm 0.241	-0.356 \pm 0.398	0.097 \pm 0.162	0 \pm 0.153	0.475 \pm 0.212

*P-value <0.05 is significant

For trueness values, the Bonferroni post hoc multiple comparison test * showed a statistically significant difference in trueness values from the reference model

For precision values, the Wilcoxon signed-rank test was used to compare the median of precision values between conventional and digital techniques, and no statistically significant findings were found

Table 3 Two-way repeated-measures ANOVA, showing result of effect of level, types of impressions, and their interaction on 3D-distance and angulation accuracy

Source	Sum of squares			Df	Mean square			F	P-value		
	3D-distance	Angulation	3D-distance		3D-distance	Angulation	3D-distance		3D-distance	Angulation	Angulation
Level of impression	343.805	3336.134	1	1	343.805	3336.134	61.5	35.592	<.001*	<.001*	<.001*
Types of impression	0.289	3.807	1.164	1.168	0.249	3.258	8.065	6.204	0.004*	0.0012*	0.0012*
Level x type of impression	0.248	2.036	1.309	1.318	0.189	1.545	11.386	5.111	<.001*	<.001*	0.019*

*P-value <0.05 is significant

Table 4 Results of multiple comparisons of 3D-distance displacement on different impression technique on implant- and abutment-level impression

Implant position	Implant level (P-value)					Abutment level (P-value)				
	1 (tilted)	2	3	4	5 (tilted)	Overall	1 (tilted)	2	3	5 (tilted)
Reference vs conventional	0.206	0.121	0.527	0.689	0.289	0.257	1.000	0.889	0.047*	0.067
Reference vs Digital	1.000	0.121	0.004*	0.412	1.000	<0.001*	<0.001*	0.015*	<0.0001*	0.025*
Conventional vs Digital	1.000	0.315	0.014*	1.000	1.000	0.006*	0.001*	0.431	0.510	0.237

*P-value <0.05 is significant

Table 5 Results of multiple comparisons of Angulation displacement on different impression technique on implant- and abutment-level impression

Implant position	Implant level (P-value)					Abutment level (P-value)				
	1 (tilted)	2	3	4	5 (tilted)	Overall	1 (tilted)	2	3	5 (tilted)
Reference vs conventional	0.519	0.764	<0.001*	0.901	<0.001*	0.003*	0.166	0.073	0.156	0.227
Reference vs Digital	1.000	0.151	0.109	0.315	1.000	0.094	0.150	0.055	0.052	0.158
Conventional vs Digital	1.000	0.043*	0.010*	0.111	0.005*	0.001*	0.006*	0.546	0.028*	<0.001*

*P-value <0.05 is significant

Discussion

Digital impressions are becoming increasingly common due to their comparable accuracy to conventional impressions, as has been reported in many studies. However, few studies have reported the effects of the level of impression to the accuracy of digital impressions compared with conventional impressions in the full edentulous arch. The results of this study indicate that the abutment-level conventional open-tray impression technique has superior accuracy in 3D-distance transfer compared with the digital impression. With angulated implants on the implant level, the digital technique is advantageous. Therefore, the null hypothesis stating that impression techniques and levels of impressions would not affect the transfer accuracy of impressions was rejected.

The level of impression can affect the accuracy of angulation transfer. The results of this study show that the abutment-level impression improves the angulation transfer accuracy of the conventional technique, since it reduces the angulation of the impression coping with an angled multi-unit abutment. Moreover, the abutment-level impression coping connection is different from the implant level, as its external connection without the adaptability concern allows easier removal of the tray. Conversely, without using impression materials and removing impression coping, an angulation of 30° of two posterior implants in this study did not affect the angulation transfer accuracy of the digital impression. The digital impression shows that the values of angulation transfer had no significant difference from the reference model in both implant and abutment level impressions. These findings are consistent with those of an *in-vitro* study which reported that the accuracy of digital impressions was not affected by implant angulations of up to 30°. ^{20,21} Abutment-level impressions do not provide a definitive benefit for digital techniques.

According to the impression technique, digital impressions seemed to be inferior to conventional im-

pressions by showing 3D-distance displacement differences that were statistically significant in many implant positions compared with the reference model, both in implant and abutment level impressions. These findings are consistent with those of studies for full arch digital impressions. ^{22,24}

Digital impressions present a typical deviation pattern in the complete arch scan by increasing deformation toward the distal end of the dental arch, which is both the beginning and the end point of the scanning process. ^{22,25}

This deviation is caused by the process of stitching multiple images together to construct a full arch image using a software program. This could be the inevitable limitation of digital impressions unless the software developer can solve this error. Nevertheless, the results of conventional and digital impressions in this study were within clinically acceptable ranges. Jemt *et al.* stated that a misfit of around 150 µm does not statistically correlate with marginal bone-level changes, and that the multi-unit implant prosthesis can function for several years under biologic tolerance in the living bone around dental implants. ³ The conventional technique showed a mean 3D-distance deviation of 32–60 µm with the implant-level impression and 21–49 µm with the abutment-level impression. The digital technique showed a mean 3D-distance deviation of 23–97 µm at the implant level and 27–118 µm at the abutment level. However, a consensus regarding the acceptable angulation deviation has not been reached. An *in-vitro* study by Kim *et al.* used the conventional open-tray impression and intraoral digital scans at the implant level in an edentulous maxillary model with six implant replicas and reported that angular deviation of less than 1° was not considered to be clinically significant. ²⁶ The findings of the present study revealed that the deviation with both impression techniques and levels of impressions were less than 1°. Different methods may be used in the evaluation of full arch impression accuracy. A best-fit algorithm or superimposition technique using software to perform mesh-to-mesh alignment and data analysis was used in many studies. ^{10,27}

The superimposition process can be designated by the software using an implant scan body or reference teeth as the superimposition point. Then the software superimposes the overall surface of the master model and scans the body into the theoretically ideal position. However, virtual superimposition by the software can create a deviation error by overlapping the physical limitations position.²⁸ In addition, the superimposition process in completely edentulous areas with a lack of anatomic landmarks or a characteristic geometry feature in the models inevitably creates errors in mesh alignment calculations.²⁵ Other studies employed the “zero method” by identifying the reference point for true data measurement using the central point of the scan body through the original CAD files and obtained the linear and angular deviations of each implant.^{21,26,29} The disadvantages of this technique were the unstable position of the reference body scan and the immeasurable true position of the reference implant.

The methodology of the present study was refined by defining the reference point, plane, and datum axis using three calibration spheres for all the models. This methodology was adapted from a measurement method in the engineering industry called “ball plate measurement.”^{30,31} Spheres are basic geometry shapes that are easy to detect with the intraoral scanner and can be precisely analyzed by the CAD software. Additionally, the center point of the spheres was less affected by the deformation of impression materials or by the setting expansion of dental stone, unlike the external surfaces of spheres or another geometry feature.^{30,31}

In this study, the laboratory reference scanner was calibrated for this experiment and the accuracy was confirmed to be 4 μm , as specified by the manufacturer. This is within the range of accuracy of reference scanners of other studies.^{10,21,27} Furthermore, the present study used a reference model with silicone soft tissue to simulate an actual clinical situation, which contrasts to prior studies that used models only made of hard material.^{7,10,20,21,25-27} A scanning strategy is also one of several factors that affect the accuracy of full-arch digital impressions.³² The edentulous

scan strategy from the manufacturer (3shape) was used in this study and considered to be a reliable standard.³³

A limitation of this study was that it was an *in-vitro* study, in which the digital impression was close to ideal in the scanning process, creating an optimal impression. In clinical situations, the angulation of the scan body, a long-span completely edentulous ridge, movable tissue, tongue movement, and the presence of saliva may make digital impressions difficult and can affect accuracy. Artificial landmarks are required for precise digital impressions in long-span edentulous areas.

The clinical implications of this study show that the abutment level-conventional impression is suitable for complete edentulous arch impression and that digital impressions have the potential to be an alternative to conventional impression procedures for implant-supported multi-unit restorations, as their accuracy is within the clinically acceptable range. In the future, if digital-impression software can eliminate image-stitching errors and increase the efficiency in full-arch impressions, digital impressions will be able to surpass the limits of conventional techniques. Due to the COVID-19 pandemic, dental health professionals (e.g., dentists, hygienists, assistants, and technicians) are more likely to be at risk due to close contact with patients and to exposure to biological fluids, aerosols, and droplet production during dental procedures and laboratory processes. With a fully digital workflow, the risk of infection is reduced, as there is no need to disinfect physical impressions, materials, and instruments. Also, the number of appointments is reduced so there is no need for transportation. Further clinical research comparing digital and conventional impression techniques in clinical conditions are needed to corroborate the findings of this *in vitro* study.

Conclusion

Based on the results of this study, the transfer accuracy was affected by impression techniques and levels of impression. The abutment-level conventional open-tray impression technique resulted in more accu-

rate trueness values than the digital impression overall. ($P=1.000$). There was no statistically significant difference regarding precision between conventional and digital techniques. However, the displacement values of both techniques were within clinically acceptable ranges.

Acknowledgements

The authors are grateful to Dr. Wirot Sudatham and the National Institute of Metrology (Thailand) for providing support with places and machines and guidance with the PolyWork software, which is generally used in engineering.

Conflicts of Interest: The authors have no conflicting interests to report with regard to the current study.

References

- Brånemark PI. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent* 1983;50(3):399-410.
- Kan JY, Rungcharassaeng K, Bohsali K, Goodacre CJ, Lang BR. Clinical methods for evaluating implant framework fit. *J Prosthet Dent* 1999;81(1):7-13.
- Jemt T, Book K. Prosthesis misfit and marginal bone loss in edentulous implant patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996;11(5):620-5.
- Buzayan MM, Yunus NB. Passive fit in screw retained multi-unit implant prosthesis understanding and achieving: a review of the literature. *J Indian Prosthodont Soc* 2014;14(1):16-23.
- Wee AG, Aquilino SA, Schneider RL. Strategies to achieve fit in implant prosthodontics: a review of the literature. *Int J Prosthodont* 1999;12(2):167-78.
- Lee H, So JS, Hochstedler JL, Ercoli C. The accuracy of implant impressions: a systematic review. *J Prosthet Dent* 2008;100(4):285-91.
- Papaspyridakos P, Chen CJ, Gallucci GO, Doukoudakis A, Weber HP, Chronopoulos V. Accuracy of implant impressions for partially and completely edentulous patients: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014;29(4):836-45.
- Donovan TE, Chee WW. A review of contemporary impression materials and techniques. *Dent Clin North Am* 2004;48(2):vi-vii, 445.
- Cappare P, Sannino G, Minoli M, Montemezzi P, Ferrini F. Conventional versus digital impressions for full arch screw-retained maxillary rehabilitations: a randomized clinical trial. *Int J Environ Res Public Health* 2019;16(5):829.
- Amin S, Weber HP, Finkelman M, El Rafie K, Kudara Y, Papaspyridakos P. Digital vs. conventional full-arch implant impressions: a comparative study. *Clin Oral Implants Res* 2017;28(11):1360-7.
- Joda T, Lenherr P, Dedem P, Kovaltschuk I, Bragger U, Zitzmann NU. Time efficiency, difficulty, and operator's preference comparing digital and conventional implant impressions: a randomized controlled trial. *Clin Oral Implants Res* 2017;28(10):1318-23.
- Gallardo YR, Bohner L, Tortamano P, Pigozzo MN, Laganá DC, Sesma N. Patient outcomes and procedure working time for digital versus conventional impressions: a systematic review. *J Prosthet Dent* 2018;119(2):214-9.
- Ashtiani RE, Tehrani S, Revilla-León M, Zandinejad A. Reducing the risk of COVID-19 transmission in dental offices: a review. *J Prosthodont* 2020;29(9):739-45.
- Vázquez-Rodríguez I, Estany-Gestal A, Seoane-Romero J, Mora MJ, Varela-Centelles P, Santana-Mora U. Quality of cross-infection control in dental laboratories. A critical systematic review. *Int J Qual Health Care* 2018;30(7):496-507.
- Shetty M, Thulasidas N, John N, Hegde C. Microbial analysis and determination of antibiotic susceptibility of dental laboratory equipment and laboratory attire. *Contemp Clin Dent* 2018;9(4):607-12.
- Buzayan M, Baig MR, Yunus N. Evaluation of accuracy of complete-arch multiple-unit abutment-level dental implant impressions using different impression and splinting materials. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28(6):1512-20.
- Siadat H, Alikhasi M, Beyabanaki E, Rahimian S. Comparison of different impression techniques when using the all-on-four implant treatment protocol. *Int J Prosthodont* 2016;29(3):265-70.
- Baig MR. Multi-unit implant impression accuracy: a review of the literature. *Quintessence Int* 2014;45(1):39-51.
- Richi MW, Kurtulmus-Yilmaz S, Ozan O. Comparison of the accuracy of different impression procedures in case of multiple and angulated implants: accuracy of impressions in multiple and angulated implants. *Head Face Med* 2020;16(1):9.
- Giménez B, Özcan M, Martínez-Rus F, Pradies G. Accuracy of a digital impression system based on parallel confocal laser technology for implants with consideration of operator experience and implant angulation and depth. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014;29(4):853-62.
- Alikhasi M, Siadat H, Nasirpour A, Hasanzade M. Three-dimensional accuracy of digital impression versus conventional method: effect of implant angulation and connection type. *Int J Dent* 2018;2018:1-9.
- Ender A, Attin T, Mehl A. In vivo precision of conventional and digital methods of obtaining complete-arch dental impressions. *J Prosthet Dent* 2016;115(3):313-20.
- ADA/American National Standards Institute. Standard No. 132.

Scanning Accuracy of Dental Chairside and Laboratory CAD/CAM Systems. American Dental Association, Chicago, IL, USA, 2015.

24. Ender A, Mehl A. Full arch scans: conventional versus digital impressions—an *in-vitro* study. *Int J Comput Dent* 2011;14(1):11-21.
25. Kim JE, Amelya A, Shin Y, Shim JS. Accuracy of intraoral digital impressions using an artificial landmark. *J Prosthet Dent* 2017; 117(6):755-61.
26. Kim KR, Seo KY, Kim S. Conventional open-tray impression versus intraoral digital scan for implant-level complete-arch impression. *J Prosthet Dent* 2019;122(6):543-9.
27. Papaspyridakos P, Gallucci GO, Chen CJ, Hanssen S, Naert I, Vandenberghe B. Digital versus conventional implant impressions for edentulous patients: accuracy outcomes. *Clin Oral Implants Res* 2016;27(4):465-72.
28. Jemt T, Hjalmarsson L. In vitro measurements of precision of fit of implant-supported frameworks. A comparison between “virtual” and “physical” assessments of fit using two different techniques of measurements. *Clin Implant Dent Relat Res* 2012; 14(suppl 1):e175-82.
29. Menini M, Setti P, Pera F, Pera P, Pesce P. Accuracy of multi-unit implant impression: traditional techniques versus a digital procedure. *Clin Oral Investig* 2018;22(3):1253-62.
30. Osawa S, Takatsuji T, Kurosawa T. First domestic comparison of ball plate calibration in Japan. *Proc SPIE*. 2005;5879.
31. Ajioka H, Kihara H, Odaira C, Kobayashi T, Kondo H. Examination of the position accuracy of implant abutments reproduced by intra-oral optical impression. *PLOS ONE* 2016;11(10):e0164048.
32. Zhang YJ, Shi JY, Qian SJ, Qiao SC, Lai HC. Accuracy of full-arch digital implant impressions taken using intraoral scanners and related variables: A systematic review. *Int J Oral Implantol (Berl)* 2021;14(2):157-79.
33. Russo L. Edentulous scan strategy by Prof. Dr. Lo Russo designed for optimal scan experience of edentulous patients with 3shape TRIOS [PDF file]. 2020. <https://www.3shape.com/-/media/files/news-pdf/prof-dr-lo-russo-edentulous-scan-strategy-jan2020.pdf?v=8de884d2-7c39-45b7-ae68-35d43e3c4e29>. Accessed December 24 2021.

การประเมินการสึกของแปรงสีฟันและผลต่อผิวเคลือบฟันน้ำนมด้วยเครื่องแปรงฟันในห้องปฏิบัติการ Evaluation of Toothbrush Wear and the Effect on Enamel Surface of Primary Teeth using a Toothbrushing Machine *in vitro*

ดวงสิน พงกษสุวรรณ¹, ปริม อวยชัย¹, ยศกฤต หล่อชัยวัฒนา², อรุณี ลายธีระพงศ์²

Twongsin Prucksasuwan¹, Prim Auychai¹, Yossakit Lochaiwatana², Arunee Laiteerapong²

¹ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

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

²ศูนย์นวัตกรรมทางทันตแพทยศาสตร์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

²CU Dental Innovation Center, Bangkok, Thailand

บทคัดย่อ

แปรงสีฟันสำหรับเด็กที่มีจำหน่ายในท้องตลาดในปัจจุบันมีหลายยี่ห้อซึ่งมีคุณสมบัติและลักษณะที่ต่างกันออกไป การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของแปรงสีฟันสำหรับเด็กที่มีจำหน่ายในท้องตลาดโดยเปรียบเทียบการสึกของขนแปรงและปลายขนแปรงสีฟัน และการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนม เมื่อถูกแปรงโดยเครื่องแปรงฟันในห้องปฏิบัติการ นำชิ้นฟันที่ตัดจากด้านแก้มของฟันกรามน้ำนมขนาด 2 x 2 มม. จำนวน 42 ชิ้น ฟันในอะคริลิกแล้วนำมาแบ่งเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ CUdent (7 มม.) CUdent (8 มม.) Berman® Colgate® Fluocaril® และ Kodomo® ทดสอบโดยการแปรงฟันร่วมกับสารละลายยาสีฟันด้วยเครื่อง วี-8 ครอสบริชชิงแมชชีน ทั้งหมด 100,000 รอบ จากนั้นนำหัวแปรงสีฟันมาหาค่าดัชนีการสึกของแปรงสีฟัน ดัดขนแปรงมาเพื่อพิจารณาลักษณะปลายขนแปรงสีฟันตามมาตรฐาน มอก. และนำผิวเคลือบฟันน้ำนมมาหาค่าเฉลี่ยความขรุขระและค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนมด้วยเครื่องวัดความขรุขระ (Talyscan 150, England) ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันทุกยี่ห้อก่อนการทดสอบอยู่ในช่วง 0.035 ถึง 0.038 โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีค่าเฉลี่ยดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันหลังการทดสอบอยู่ในช่วง 0.088 ถึง 0.245 โดยพบว่าแปรงสีฟันยี่ห้อ Fluocaril® และ CUdent (8 มม.) มีค่าเฉลี่ยดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันสูงกว่ายี่ห้ออื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ร้อยละของลักษณะปลายขนแปรงสีฟันที่ยอมรับได้ก่อนการทดสอบอยู่ในช่วงร้อยละ 90.67 ถึง 94.67 หลังการทดสอบอยู่ในช่วงร้อยละ 78.29 ถึง 96.00 และค่าเฉลี่ยความขรุขระและค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนมก่อนการทดสอบใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 9.054 ถึง 10.563 และ 0.021 ถึง 0.028 ตามลำดับ และหลังการทดสอบยังคงมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 9.638 ถึง 10.792 และ 0.032 ถึง 0.058 ตามลำดับ โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งก่อนและหลังทดสอบ จากการศึกษาสรุปว่าแปรงสีฟันที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีคุณสมบัติทางกายภาพใกล้เคียงกัน โดยดัชนีการสึกของขนแปรงเรียงลำดับจากน้อยไปมาก คือ CUdent (7 มม.) Colgate® Berman® Kodomo® CUdent (8 มม.) และ Fluocaril® ตามลำดับ ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม CUdent (7 มม.) Berman® Colgate® และ Kodomo® แต่แปรงสีฟันยี่ห้อ Fluocaril® และ CUdent (8 มม.) มีการสึกของขนแปรงสีฟันมากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ร้อยละของลักษณะของปลายขนแปรงที่ยอมรับได้ก่อนและหลังการทดสอบผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกยี่ห้อที่นำมาทดสอบ และไม่พบการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนมหลังการทดสอบในทุกกลุ่ม

คำสำคัญ: การสึก, เครื่องแปรงฟัน, แปรงสีฟันสำหรับเด็ก, ผิวเคลือบฟัน, ฟันน้ำนม

Abstract

A variety of commercial children's toothbrushes are commercially available with different physical properties. The aim of this study was to evaluate the physical properties of commercial children's toothbrushes, toothbrush

wear, bristle-tip wear, and effect of brushing on primary enamel surfaces using a V8 cross-brushing machine, *in vitro*. Primary enamel specimens (2x2 mm²) were mounted in acrylic blocks (n=42) and randomly assigned to 6 groups: CUDent (7mm), CUDent (8mm), Berman®, Colgate®, Fluocaril®, and Kodomo®. The specimens were mounted and brushed in a V8 cross-brushing machine for 100,000 strokes. Following brushing, the toothbrush-heads were measured to calculate the wear index and the bristle-tips were evaluated based on the Thai Industrial Standards (TIS). The specimens were measured for surface roughness and average mean depth using a profilometer. This study revealed that the wear index before brushing was 0.035–0.038 with no significant differences between groups. However, the wear index after brushing was 0.088–0.245 with significant difference between groups ($p<0.001$) and the post-hoc analysis revealed that the Fluocaril® and CUDent (8mm) groups had significantly higher index scores than the others. The percentage of acceptable bristle-tip before and after brushing was 90.67–94.67 and 78.2–96.00, respectively. The surface roughness and average mean depth before brushing were 9.054–10.563 and 0.021–0.028 nm, respectively, and after brushing was 9.638–10.792 and 0.032–0.058 nm, respectively. No significant differences between groups were found before and after brushing. These findings indicate that the commercial children's toothbrushes had similar physical properties. Furthermore, Fluocaril® and CUDent (8mm) groups were the most worn after brushing. All toothbrushes tested passed the TIS for acceptable bristle-tip before and after brushing. In addition, no significant abrasion of the primary enamel surfaces was found after brushing with the tested toothbrushes.

Keywords: Wear, V-8 cross-brushing machine, Children's toothbrushes, Enamel, Primary tooth

Received Date: Feb 28, 2022

Revised Date: Mar 29, 2022

Accepted Date: Apr 25, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.49

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ :

ปริม อวยชัย, ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย โทรศัพท์: 086-977-0050
อีเมล: prim.a@chula.ac.th

Correspondence to :

Prim Auychai, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, 10310 Thailand. Tel: 086-977-0050
Email: prim.a@chula.ac.th

บทนำ

ในปัจจุบันนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่า คราบจุลินทรีย์คือสาเหตุสำคัญของการเกิดฟันผุและเหงือกอักเสบ โดยเมื่อมีการสะสมของคราบจุลินทรีย์เป็นระยะเวลานาน^{1,2} จากภาวะไม่สมดุลของระบบนิเวศภายในคราบจุลินทรีย์³ ดังนั้น การดูแลสุขภาพช่องปากโดยการกำจัดคราบจุลินทรีย์เป็นสิ่งสำคัญเพื่อกำจัดต้นเหตุของโรคฟันผุและโรคปริทันต์

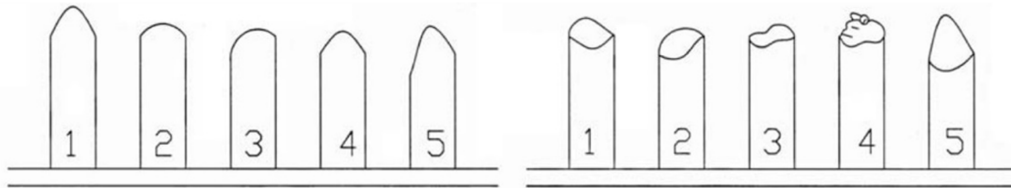
การแปรงฟันเป็นวิธีหนึ่งของการดูแลสุขภาพช่องปากที่ใช้ในการกำจัดคราบจุลินทรีย์และเศษอาหารออกจากฟัน⁴ มีหลักฐานพบว่ามีการใช้ขนหมู (Hog bristles) มาทำเป็นขนแปรงสีฟันในช่วงของราชวงศ์ถัง (ค.ศ. 618 – 907)^{5,6} อย่างไรก็ตาม ขนแปรงสีฟัน

ที่ใช้เส้นใยจากธรรมชาตินั้นมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำได้มาก ขนแปรงมีความอ่อนนุ่มขึ้นเมื่อสัมผัสกับน้ำและกำจัดคราบจุลินทรีย์ได้ดี ทำให้ในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 2 ได้มีการนำขนแปรงไนลอนมาใช้แทนขนแปรงจากธรรมชาติ ซึ่งไนลอนมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดีกว่า⁷ ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาขนแปรงที่ทำจากโพลีบิวทิลีนเทเรฟทาเลต หรือขนแปรงพีบีที (Polybutylene Terephthalate; PBT)⁸ ซึ่งขนแปรงพีบีทีนั้นมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดีกว่าและมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าขนแปรงไนลอน

ลักษณะของขนแปรงสีฟันแบ่งประเภทตามความแข็งของขนแปรง ได้แก่ แข็ง ปานกลาง นุ่ม และนุ่มพิเศษ โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อ

ความแข็งของขนแปรงคือ ชนิดของขนแปรง เส้นผ่านศูนย์กลางของขนแปรง ความยาวของขนแปรง และจำนวนขนแปรงต่อกระจุก โดยจากการศึกษาพบว่าขนแปรงที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่สามารถกำจัดคราบจุลินทรีย์ได้ดีกว่าขนแปรงที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กแต่ก็มีโอกาสก่อให้เกิดแผลที่เหงือกจากการแปรงฟันได้มากกว่าเช่นกัน⁹ นอกจากนี้ ส่วนของปลายขนแปรงก็มีความสำคัญเช่นกัน โดยจากการศึกษาพบว่าปลายขนแปรงที่ไม่มีความกลมมนสามารถ

ทำให้เกิดแผลที่เหงือกได้¹⁰ สำหรับในประเทศไทย กระทรวงอุตสาหกรรมได้กำหนดมาตรฐานอุตสาหกรรม หรือ มอก. ของแปรงสีฟัน เพื่อควบคุมคุณภาพของแปรงสีฟันที่จะผลิตออกสู่ท้องตลาด โดยมีการกำหนดคุณลักษณะที่ต้องการรวมถึงได้กำหนดลักษณะของปลายขนแปรงที่ยอมรับได้และลักษณะที่บกพร่องไว้ตาม มอก. 42-2548 (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ลักษณะปลายขนแปรงที่ยอมรับได้ (ซ้าย) และบกพร่อง (ขวา) ตามมาตรฐาน มอก. 42 - 2548

Figure 1 Acceptable (left) and non-acceptable (right) bristle tips following TIS

เมื่อแปรงสีฟันถูกใช้งานไปสักระยะหนึ่งขนแปรงมักจะมีลักษณะโค้งงอค้ำขึ้นจากแนวเดิมของกระจุกขนแปรงหรือมีลักษณะบานออก และเมื่อยังใช้งานไปเรื่อย ๆ ก็จะมีขนออกมากขึ้นและสังเกตได้ชัดเจนมากขึ้น โดยมีการเพิ่มขึ้นของพื้นที่หน้าตัดแปรง ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นตัวบ่งบอกที่สำคัญว่าแปรงสีฟันสูญเสียประสิทธิภาพและควรเปลี่ยนแปรงสีฟัน¹¹ การบานของขนแปรงเกิดได้จากหลายสาเหตุ โดยแบ่งเป็นสาเหตุจากคุณสมบัติทางกายภาพของขนแปรง และสาเหตุจากผู้แปรง สำหรับสาเหตุจากคุณสมบัติทางกายภาพของขนแปรงนั้น โดยทั่วไปแล้ววัสดุที่ใช้ผลิตขนแปรงสีฟันเองจะมีคุณสมบัติทางกายภาพเฉพาะตัวอยู่แล้ว นอกจากนี้ขนแปรงแต่ละชนิดยังมีความสามารถในการต้านทานการสึก (Abrasion resistance) ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงอัตราการสึกของขนแปรง (Abrasion rate) อีกด้วย ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสึกของผิวฟัน ได้แก่ ความสามารถในการขัดสีของยาสีฟันที่ใช้ในการแปรงฟัน ชนิดของขนแปรง และแรงที่ใช้ในการแปรง¹² การศึกษาส่วนใหญ่จึงมุ่งเน้นไปที่การทดสอบการสึกของผิวฟันจากยาสีฟันเนื่องจากในยาสีฟันมีการขัดฟันซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการทำให้ผิวฟันสึก โดยสามารถวัดการสึกของผิวฟันด้วยวิธี Radioactive dentin abrasion (RDA) ซึ่งเป็นการวัดสารรังสีที่หลุดออกมาจากผิวฟันที่เคลือบสารรังสีไว้¹³ นอกจากนี้ยังสามารถใช้เครื่องวัดความขรุขระของพื้นผิว หรือ Profilometer ในการวัดค่าเฉลี่ยความขรุขระพื้นผิว (Surface roughness; Ra) และค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟัน (Average depth of enamel removed) ซึ่งเป็นการวัดความลึกของผิวเคลือบฟันที่หายไปจากการแปรงฟันเทียบกับพื้นที่อ้างอิงที่ไม่ถูกแปรง¹⁴ เพื่อเป็นการบอกถึงการสึกที่เกิดขึ้นบนผิวเคลือบฟันได้

อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้แปรงสีฟันไประยะหนึ่งแล้วขนแปรงสีฟันมักจะบานออกทำให้ความสามารถในการกำจัดคราบจุลินทรีย์บนผิวฟันลดลง หลายการศึกษาแนะนำให้เปลี่ยนแปรงสีฟันทุก 3 - 4 เดือน^{9,15} หรือเมื่อพบว่าขนแปรงบานออก¹⁶ สำหรับแปรงสีฟันที่ใช้ในเด็กนั้น บางครั้งพบว่ามีอายุการใช้งานที่สั้นกว่าที่ควรจะเป็นเนื่องจากพฤติกรรมการเคี้ยวแปรงสีฟันขณะแปรง¹¹ ซึ่งทำให้ต้องเปลี่ยนแปรงสีฟันเร็วกว่าปกติ โดยการศึกษาก่อนหน้านี้มักจะเน้นไปที่การวัดการกำจัดคราบจุลินทรีย์^{11,17,18} และการสึกของขนแปรงสีฟันจากการใช้งานจริง^{16,19} การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของแปรงสีฟันสำหรับเด็กที่มีจำหน่ายในท้องตลาดโดยเปรียบเทียบการสึกของขนแปรงและลักษณะปลายขนแปรงสีฟันและการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนม เมื่อถูกแปรงโดยเครื่องแปรงฟันในห้องปฏิบัติการ โดยมีสมมติฐานของงานวิจัยนี้ว่าคุณสมบัติทางกายภาพของแปรงสีฟันสำหรับเด็กที่มีจำหน่ายในท้องตลาดไม่มีความแตกต่างกัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษานี้ผ่านการอนุมัติการทำวิจัยโดยใช้ชิ้นส่วนของมนุษย์จากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการศึกษาวิจัยในมนุษย์ที่เกี่ยวข้องกับทันตแพทย์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย(HREC-DCU 2020-050)โดยแบ่งการทดสอบเป็น 3 ส่วนดังนี้

1. การทดสอบการสึกของขนแปรงสีฟัน

การทดสอบการสึกของขนแปรงสีฟันใช้แปรงสีฟันสำหรับเด็กอายุ 3 - 6 ปี จำนวน 5 ยี่ห้อ 6 รุ่น ได้แก่ ยี่ห้อ CUdent (Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Thailand) จำนวน

2 รุ่น, Berman® (Rinchokechai, Thailand) จำนวน 1 รุ่น, Colgate® (Colgate-Palmolive, USA) จำนวน 1 รุ่น, Fluocaril® (P&G, USA)

จำนวน 1 รุ่น และ Kodomo® (LION, Japan) จำนวน 1 รุ่น คุณสมบัติของแปรงสีฟันดังแสดงในตารางที่ 1

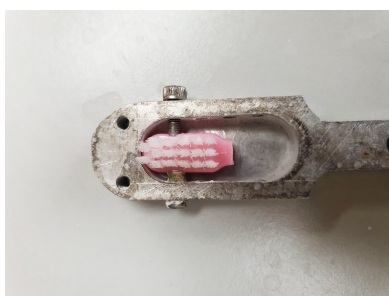
ตารางที่ 1 ข้อมูลของแปรงสีฟันสำหรับเด็กอายุ 3 – 6 ปี ที่นำมาใช้ในงานวิจัย

Table 1 Details of the children's toothbrushes used in this study

Brands (Manufacturer)	Recommended age by the manufacturer (Years)	Stiffness	Bristle type	Number of tufts	Bristle properties	
					Length (mm)	Diameter (mm)
CUdent	3 – 6	Soft	Nylon	20	7	0.13-0.14
(The First Thai Brush, Thailand)	3 – 6	Soft	Nylon	20	8	0.13-0.14
Kodomo®	3 – 6	Soft	Nylon	20	9	0.16-0.17
(Lion, Thailand)						
Fluocaril®	2 – 6	Extra soft	Nylon	24	10	0.16-0.17
(The First Thai Brush, Thailand)						
Colgate®	3 – 5	Extra soft	PBT	24	10.5	0.10-0.11
(Colgate-Palmolive, Thailand)						
Berman®	3 – 6	Soft	Nylon	23	9	0.16-0.17
(Rinchokechai, Thailand)						

โดยกำหนดจำนวนกลุ่มตัวอย่างตามมาตรฐานการทดสอบการสึกของพื้นผิวโดยแปรงสีฟัน ISO/TR 14569-1:2007 มีกลุ่มทดสอบทั้งหมด 6 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ชิ้น เพื่อขึ้นงานเสียหายกลุ่มละ 1 ชิ้น รวมเป็น 42 ชิ้นหัวแปรง

ตัดเฉพาะส่วนหัวแปรงด้วยหัวคาร์โบรันดัมเพื่อที่จะนำหัวแปรงมายึดเข้ากับตัวจับหัวแปรงที่สามารถใช้กับเครื่องแปรงฟันได้ (รูปที่ 2)

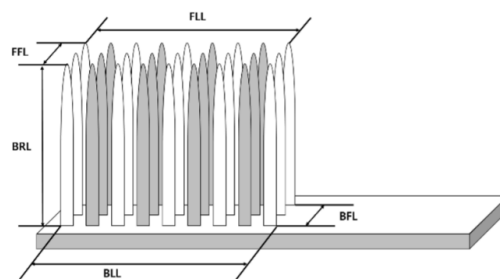


รูปที่ 2 หัวแปรงที่ถูกยึดเข้ากับตัวจับหัวแปรงที่สามารถใช้กับเครื่องแปรงฟัน
Figure 2 Attached toothbrush head in the toothbrushing machine mold

การศึกษานี้ใช้หัวแปรงรุ่นละ 7 ชิ้น โดยเครื่องแปรงฟันที่ใช้ในการศึกษานี้คือ V8 cross – brushing machine (Sabri Dental, Downers Grove, IL, USA) โดยหัวแปรงจะต้องแช่น้ำประปายน้อย 1 คืนก่อนใช้ในการทดสอบ วัดขนาดแปรงสีฟันตัวอย่างโดยผู้วัดเพียงคนเดียวด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) และคำนวณค่า

ดัชนีการสึกตามวิธีของ Rawls และคณะ²⁰ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานก่อนการทดสอบ โดยสามารถหาได้จากการวัดความยาว 5 จุดดังรูปที่ 3 และนำมาคำนวณดังต่อไปนี้

$$WI = \frac{FLL - BLL + FFL - BFL}{BRL \times 2}$$

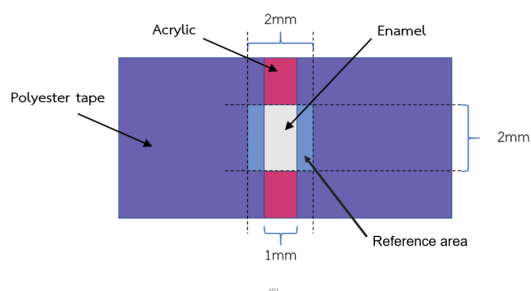


รูปที่ 3 การคำนวณดัชนีการสึกตามวิธีของ Rawls และคณะ
Figure 3 Wear Index measurement by Rawls et al.20

โดย FLL คือ ความยาวทางด้านปลายขนแปรงเมื่อมองจากด้านข้าง
BLL คือ ความยาวทางด้านที่ขนแปรงยึดกับหัวแปรงเมื่อมองจากด้านข้าง
FFL คือ ความยาวทางด้านปลายขนแปรงเมื่อมองจากด้านหน้า
BFL คือ ความยาวทางด้านที่ขนแปรงยึดกับหัวแปรงเมื่อมองจากด้านข้าง
BRL คือ ความยาวสูงสุดของขนแปรง

นำฟันนํ้ามนมนุษย์ที่ผ่านเกณฑ์การคัดเข้า คือ เป็น ฟันกรามนํ้ามนซี่ที่ 1 หรือซี่ที่ 2 ของขากรรไกรบนหรือล่างที่ผิวฟัน ปกติ ไม่มีรอยผุ รอยร้าว บนด้านแก้ม และมีเกณฑ์การคัดออก คือ ฟันกรามนํ้ามนที่มีรอยผุทางด้านแก้มหรือด้านอื่นที่ไม่ใช่ด้านแก้ม ลูกกลามจนทำให้ผิวฟันด้านแก้มเหลือความหนาอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร หรือมีวัสดุบูรณะ โดยกำหนดจำนวนกลุ่มตัวอย่างตามมาตรฐานการ ทดสอบการสึกของฟันผิวโดยแปร่งสีฟัน ISO/TR 14569-1:2007 มีกลุ่มทดสอบทั้งหมด 6 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ซี่น เพื่อขึ้นงานเสียหายกลุ่มละ 1 ซี่น รวมเป็น 42 ซี่น เก็บฟันโดยแช่ในสารละลายไธมอล (Thymol solution) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

ล้างทำความสะอาดฟันนํ้ามนและชุบน้ำยเอีร์รอบ ๆ ออก ด้วยพายหมายเลข 7 (Spatula NO.7) ขัดด้านแก้มของฟันให้เรียบ ด้วยกระดาษทรายเบอร์ 1,000 ด้วยเครื่องขัดผิววัสดุ (Polishing machine, NANO 2000, Pace Technologies, USA) โดยให้อยู่ ในชั้นเคลือบฟัน แล้วตัดให้มีขนาด 2 x 2 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องตัดฟัน (ISOMET 1000, Buchler, USA) นำมายึดเข้ากับชิ้นอะคริลิกให้มี ผิวหน้าเสมอกัน ติดขึ้นทดสอบด้วยเทปโพเลียสเตอร์ ปิดทับผิวฟัน บางส่วนเพื่อใช้เป็นพื้นที่อ้างอิง โดยปิดทับชิ้นงานเพื่อสร้างช่องหน้าต่าง ให้ผิวฟันถูกแปร่งเป็นพื้นที่ 1 x 2 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 การเตรียมชิ้นงานก่อนการทดสอบการสึกของผิวเคลือบฟัน
Figure 4 Preparation of the specimens for the enamel wear assay

แล้วจึงยึดเข้ากับเครื่องแปร่งฟัน นำหัวแปร่งที่เตรียมไว้ ยึดกับตัวจับหัวแปร่งแล้วนำมายึดเข้ากับเครื่องแปร่งฟัน V-8 cross – brushing machine ในการทดสอบ 1 รอบจะใช้หัวแปร่งทั้ง 6 ชนิด ใช้แรงที่ 250 กรัม นำสารละลายยาสีฟันที่ได้จากการเจือจางยาสีฟัน ยี่ห้อ Colgate® สยอดนิยิม (Colgate-Palmolive, USA) 25 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน 40 กรัม ประกอบเข้ากับเครื่องแปร่งฟัน แปร่งด้วยเครื่องแปร่งฟันทั้งหมด 100,000 รอบ โดยจะเตรียมสารละลายยาสีฟันใหม่เมื่อสิ้นสุดการแปร่งที่ 40,000 และ 80,000 รอบ เก็บหัวแปร่งสีฟันมาทำความสะอาดและเป่าให้แห้งเพื่อนำมาหาค่าดัชนีการสึกของฟันแปร่งสีฟันหลังการทดสอบ

ทดสอบความน่าเชื่อถือในตัวผู้วัด (Intra-examiner reliability) ของการวัดการสึกของฟันแปร่งสีฟัน ทำโดยสุ่มขึ้นหัวแปร่งร้อยละ 20 วัดและคำนวณดัชนีการสึกโดยผู้วัดคนเดิมในระยะเวลาห่างกัน 2 สัปดาห์ และทดสอบความน่าเชื่อถือในตัวผู้วัดของการวัดโดยสถิติ Intraclass Correlation Coefficient โดยต้องได้ค่าไม่น้อยกว่า 0.90 สำหรับความน่าเชื่อถือในตัวผู้วัดระดับดีมาก²¹

2. การเปรียบเทียบลักษณะปลายชนแปร่งสีฟัน

สุ่มเลือกกระดูกชนแปร่งตัวอย่างในตำแหน่งต่างกันร้อยละ 20 ของจำนวนกระดูกทั้งหมดบนหัวแปร่ง (หากมีเศษให้ปิดขึ้น) เลือกสุ่มตัดชนแปร่งจำนวน 5 เส้นต่อกระดูกเป็นชิ้นทดสอบที่ละ เส้นโดยการเลือกกระดูกชนแปร่งในการทดสอบเป็นไปตามมาตรฐาน มอก. 42 – 2548

ใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ (SZ 61, OLYMPUS, Japan) โดยใช้กำลังขยาย 10 x 4.5 เท่า ถ่ายรูปลักษณะของปลาย ชนแปร่งด้วยกล้องถ่ายภาพรูปดิจิทัลสำหรับกล้องจุลทรรศน์ (AxioCam MRc 5, Carl Zeiss, Germany) คุณลักษณะของปลายชนแปร่งที่ยัง ไม่ได้ทดสอบแทนลักษณะชนแปร่งก่อนการทดสอบเปรียบเทียบกับ ปลายชนแปร่งหลังการทดสอบด้วยการแปร่งฟันด้วยเครื่อง V8 cross – brushing machine เป็นจำนวน 100,000 รอบโดยผู้วัดคนเดียว ตามการทดสอบลักษณะของฟันแปร่งและความมนของปลายชน แปร่งของมาตรฐาน มอก. 42 – 2548

ทดสอบความน่าเชื่อถือในตัวผู้วัดของการเปรียบเทียบ ลักษณะปลายชนแปร่งโดยสุ่มชนแปร่ง ร้อยละ 20 จากแต่ละชนิด แล้วนำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอโดยใช้กำลังขยาย 10 x 4.5 เท่า อ่านลักษณะปลายชนแปร่งที่ได้โดยผู้วัดคนเดิมใน ระยะเวลาห่างกัน 2 สัปดาห์ และทดสอบความน่าเชื่อถือในตัวผู้วัด ของการวัดโดยสถิติ Kappa โดยต้องได้ค่าไม่น้อยกว่า 0.75 สำหรับ ความน่าเชื่อถือในตัวผู้วัดระดับดีมาก²²

3. การทดสอบการสึกของผิวเคลือบฟันนํ้ามน

สแกนลักษณะของผิวเคลือบฟันผ่านแนวของพื้นที่อ้างอิง ที่ปิดด้วยเทปไว้ด้วยเครื่องวัดความขรุขระชนิดสัมผัส (Talyscan 150, England) ในแนวนอน 2 มิลลิเมตร (X) และในแนวตั้ง 2 มิลลิเมตร (Y) โดยตัวเครื่องวัดทุก 0.001 มิลลิเมตร ในแนวนอน และทุก 0.01 มิลลิเมตร ในแนวตั้ง หลังจากนั้นใช้โปรแกรมในการคำนวณค่า ความขรุขระของพื้นผิว (Surface roughness, Ra) และค่าเฉลี่ย ความลึกการสึกของผิวเคลือบฟัน (Average depth of enamel removed) ในหน่วยนาโนเมตร สแกนลักษณะของผิวเคลือบฟัน หลังจากยึดเข้ากับชิ้นอะคริลิกและขัดให้เรียบแล้วเพื่อใช้เป็นข้อมูล

พื้นฐานก่อนการทดสอบเปรียบเทียบกับลักษณะผิวเคลือบฟันหลังการทดสอบด้วยการแปรงฟันด้วยเครื่อง V8 cross – brushing machine เป็นจำนวน 100,000 รอบ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิจัยนี้วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ทดสอบการกระจายของข้อมูลเชิงปริมาณทั้งหมด (Test of normality) ด้วยสถิติ Shapiro – Wilk test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

วิเคราะห์ความแตกต่างของดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันความขรุขระของผิวเคลือบฟันจากการแปรงฟันและค่าเฉลี่ยความสึกการสึกของผิวเคลือบฟันเมื่อเปรียบเทียบแต่ละยี่ห้อ หากพบว่าการกระจายตัวของข้อมูลที่ปกติ ใช้สถิติ one way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และตามด้วย Tukey test

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันจำแนกตามยี่ห้อก่อนและหลังทดสอบ ค่า p – value เปรียบเทียบก่อนและหลังทดสอบ และ p -value เปรียบเทียบแต่ละยี่ห้อ

Table 2 Mean and standard deviation of the Wear Index compared between brands

Brand	Wear Index		p-value	Brand				
	Before	After		CUdent (8mm)	Berman®	Colgate®	Fluocaril®	Kodomo®
CUdent (7mm)	0.037±0.005	0.088±0.014	<0.001*	<0.001*	0.924	0.999	<0.001*	0.258
CUdent (8mm)	0.036±0.005	0.160±0.040	<0.001*		0.001*	<0.001*	<0.001*	0.032*
Berman®	0.038±0.004	0.101±0.018	<0.001*			0.991	<0.001*	0.814
Colgate®	0.037±0.003	0.093±0.021	0.001*				<0.001*	0.459
Fluocaril®	0.035±0.003	0.245±0.028	<0.001*					<0.001*
Kodomo®	0.037±0.004	0.117±0.020	<0.001*					

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันแต่ละยี่ห้อก่อนการทดสอบเมื่อทดสอบด้วยสถิติ one way ANOVA ($p=0.729$) และหลังการทดสอบด้วยการแปรงฟันพบว่าดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.088±0.014

วิเคราะห์ความแตกต่างของดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันความขรุขระของผิวเคลือบฟันจากการแปรงฟันและค่าเฉลี่ยความสึกการสึกของผิวเคลือบฟันจำแนกตามยี่ห้อก่อนและหลังทดสอบ หากพบว่าการกระจายตัวของข้อมูลที่ปกติ ใช้สถิติ Pair t – test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลักษณะปลายขนแปรงของแต่ละยี่ห้อรายงานเป็น ร้อยละของปลายขนแปรงที่ยอมรับได้และยอมรับไม่ได้

ผลการศึกษา

ดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันก่อนทดสอบด้วยเครื่องแปรงฟัน V8 cross – brushing machine ในแต่ละกลุ่มมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานใกล้เคียงกันโดยอยู่ในช่วง 0.035±0.003 ถึง 0.038±0.004 ดังแสดงในตารางที่ 2

ถึง 0.245±0.028 เรียงยี่ห้อจากน้อยไปมาก คือ CUdent (7mm) Colgate® Berman® Kodomo® CUdent (8mm) และ Fluocaril® ตามลำดับ (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 ขนแปรงหลังการทดสอบด้วยการแปรงฟัน 100,000 รอบ

Figure 5 Images of the bristles after the toothbrushing test at 100,000 strokes

โดยเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยสถิติ one way ANOVA พบว่ามีความแตกต่างกันของดัชนีการสึกของขนแปรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) และเมื่อทดสอบด้วยสถิติ Tukey test พบว่า Fluocaril® มีดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันแตกต่างจากอีก 5 กลุ่มที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) นอกจากนี้พบว่า CUdent (8mm) มีดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันแตกต่างจาก CUdent (7mm) Colgate® และ Fluocaril® อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) แตกต่างจาก Berman® อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$) และแตกต่างจาก Kodomo® อย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ($p=0.032$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันจำแนกตามยี่ห้อก่อนและหลังทดสอบด้วยสถิติ Pair *t*-test พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกยี่ห้อแปรงสีฟัน

ลักษณะปลายขนแปรงสีฟันก่อนการทดสอบด้วยการแปรงฟันด้วยเครื่อง V-8 cross – brushing machine ที่ยอมรับได้อยู่ในช่วงร้อยละ 90.67 ถึง 94.67 เรียงยี่ห้อจากน้อยไปมาก คือ Colgate® CUdent (7mm) เท่ากับ CUdent (8mm) Berman® เท่ากับ Kodomo® และ Fluocaril® ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนและร้อยละของลักษณะปลายขนแปรงสีฟันที่ยอมรับได้ก่อนการทดสอบจำแนกตามยี่ห้อ

Table 3 Number and percentage of acceptable bristle tips before testing compared between brands

Brand	Number of tested bristles	Acceptable						Non-acceptable					
		1	2	3	4	5	Sum (%)	1	2	3	4	5	Sum (%)
CUdent (7mm)	75	1	12	45	2	9	69 (92.00)	0	0	2	1	3	6 (8.00)
CUdent (8mm)	75	1	9	42	3	14	69 (92.00)	0	0	3	3	0	6 (8.00)
Berman®	75	8	19	25	13	5	70 (93.33)	1	2	0	1	1	5 (6.67)
Colgate®	75	0	0	0	0	68	68 (90.67)	0	0	0	7	0	7 (9.33)
Fluocaril®	75	1	20	14	13	23	71 (94.67)	1	0	0	2	1	4 (5.33)
Kodomo®	75	14	3	4	8	41	70 (93.33)	1	0	0	1	3	5 (6.67)

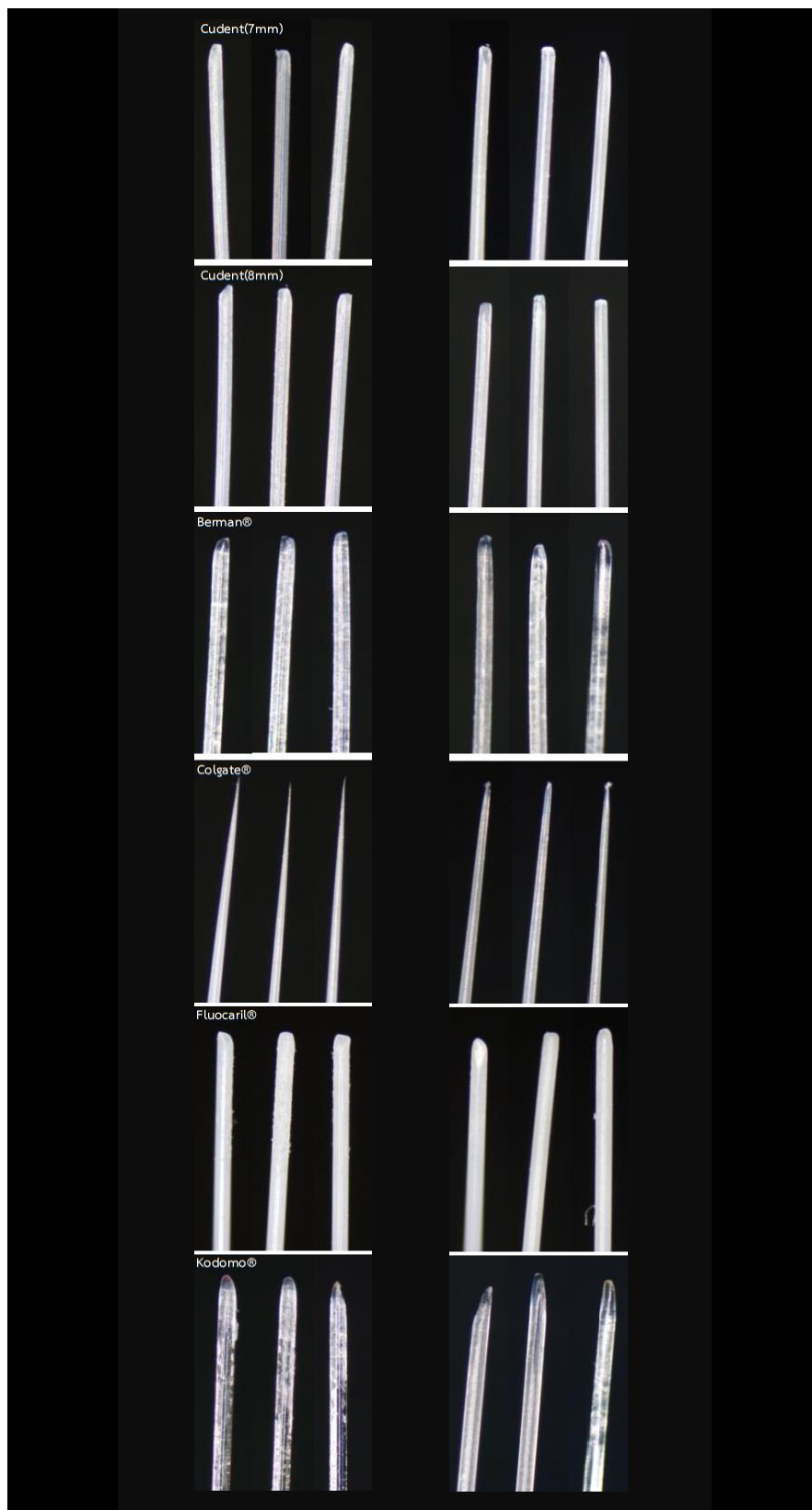
และลักษณะปลายขนแปรงสีฟันหลังการทดสอบด้วยการแปรงฟันด้วยเครื่อง V-8 cross – brushing machine ที่ยอมรับได้อยู่ในช่วงร้อยละ 78.29 ถึง 96.00 เรียงยี่ห้อจากน้อยไปมาก คือ Colgate® CUdent (8mm) Kodomo® CUdent (7mm) Fluocaril®

และ Berman® ตามลำดับ (ตารางที่ 4) โดยลักษณะของปลายขนแปรงทั้งก่อนและหลังทดสอบด้วยการแปรงฟันเป็นจำนวน 100,000 รอบเป็นดังรูปที่ 6

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนและร้อยละของลักษณะปลายขนแปรงสีฟันที่ยอมรับได้หลังการทดสอบจำแนกตามยี่ห้อ

Table 4 Number and percentage of non-acceptable bristle tips before testing compared between brands

Brand	Number of tested bristles	Acceptable						Non-acceptable					
		1	2	3	4	5	Sum (%)	1	2	3	4	5	Sum (%)
CUdent (7mm)	175	2	52	51	13	47	165 (94.29)	1	1	4	3	1	10 (5.71)
CUdent (8mm)	175	2	68	52	16	25	163 (93.14)	0	2	6	1	3	12 (6.86)
Berman®	175	3	62	60	28	16	169 (96.57)	0	0	5	0	1	6 (3.43)
Colgate®	175	12	11	32	6	76	137 (78.29)	0	1	1	35	1	38 (21.71)
Fluocaril®	175	4	63	40	32	29	168 (96.00)	0	0	6	0	1	7 (4.00)
Kodomo®	175	12	28	44	27	53	164 (93.71)	7	1	0	0	3	11 (6.29)



รูปที่ 6 ลักษณะปลายขนแปรงแบ่งตามยี่ห้อก่อนทดสอบ (ซ้าย) และหลังทดสอบด้วยการแปรงฟันเป็นจำนวน 100,000 รอบ (ขวา) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอที่กำลังขยาย 45 เท่า

Figure 6 Bristle tips of before (left) and after 100,000 strokes brushing test (right) compared between brands under 45x stereomicroscope

ค่าเฉลี่ยความขรุขระของผิวเคลือบฟันน้ำนมและค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟันวัดหลังจากเตรียมชิ้นงานไว้เป็นค่าเริ่มต้นของแต่ละกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 9.054 ± 2.006 ถึง 10.563 ± 3.342 และ 0.021 ± 0.008 ถึง 0.028 ± 0.010 นาโนเมตร ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 5 โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อทดสอบด้วยการแปรงฟันด้วยเครื่อง V-8 cross – brushing machine ผ่านไปครบ 100,000 รอบ ได้วัดค่าเฉลี่ยความขรุขระของผิวเคลือบฟันน้ำนมและค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนมหลังการทดสอบ พบว่าแต่ละกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 9.638 ± 1.694 ถึง 10.792 ± 0.889 และ 0.032 ± 0.012 ถึง 0.058 ± 0.042 นาโนเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ยความขรุขระของผิวเคลือบฟันน้ำนมและค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนมจำแนกตามยี่ห้อก่อนและหลังทดสอบและค่า p – value เปรียบเทียบก่อนและหลังทดสอบ

Table 5 Mean and standard deviation of the surface roughness and depth of enamel removed compared between brands

Brand	Surface roughness of enamel (nm)		p -value	Average mean depth of enamel removed (nm)		p -value
	ก่อน	หลัง		ก่อน	หลัง	
CUdent (7mm)	9.571 ± 1.862	9.638 ± 1.694	0.953	0.025 ± 0.012	0.040 ± 0.020	0.067
CUdent (8mm)	9.054 ± 2.006	10.202 ± 1.946	0.086	0.023 ± 0.005	0.035 ± 0.014	0.052
Berman®	9.718 ± 2.790	9.898 ± 1.679	0.826	0.028 ± 0.010	0.032 ± 0.012	0.431
Colgate®	10.007 ± 1.767	10.768 ± 0.930	0.241	0.024 ± 0.010	0.058 ± 0.042	0.090
Fluocaril®	10.563 ± 3.342	10.792 ± 0.889	0.839	0.021 ± 0.008	0.038 ± 0.030	0.151
Kodomo®	10.109 ± 1.369	9.861 ± 0.627	0.673	0.023 ± 0.011	0.051 ± 0.043	0.108

โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความขรุขระของผิวเคลือบฟันน้ำนมและค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนมจำแนกตามยี่ห้อก่อนและหลังทดสอบด้วยสถิติ Pair t -test ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน

ผลของการทดสอบความน่าเชื่อถือภายในตัวผู้วัดของการวัดดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟัน 2 ครั้ง ในเวลาที่ต่างกันโดยใช้สถิติ Intraclass Correlation Coefficient พบว่ามีค่าอยู่ที่ 0.998 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งแสดงว่ามีความน่าเชื่อถือภายในตัวผู้วัดในระดับดีมาก²¹

สำหรับผลของการทดสอบความน่าเชื่อถือภายในตัวผู้วัดของการเปรียบเทียบลักษณะของปลายขนแปรงสีฟัน 2 ครั้ง ในเวลาที่ต่างกันโดยใช้สถิติ Cohen's Kappa พบว่ามีค่าอยู่ที่ 0.862 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งแสดงว่ามีความน่าเชื่อถือภายในตัวผู้วัดในระดับดีมาก²²

บทวิจารณ์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของแปรงสีฟัน โดยทดสอบการสึกของขนแปรงและปลายขน

แปรงสีฟันร่วมกับการประเมิณผลต่อผิวเคลือบฟันน้ำนมเมื่อถูกแปรงด้วยแปรงสีฟันที่มีจำหน่ายอยู่ในท้องตลาดในปัจจุบันหลายยี่ห้อ โดยใช้เครื่องแปรงฟันในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นแนวทางให้ผู้บริโภคใช้ประกอบการตัดสินใจเลือกซื้อแปรงสีฟันเด็กที่มีความทนทานและปลอดภัยในการใช้งาน โดยดัดแปลงวิธีการมาจากการทดสอบการสึกของพื้นผิวโดยการแปรงฟันในห้องปฏิบัติการ (ISO/TR 14569-1:2007) เพื่อควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ได้แก่ แรงที่ใช้ในการแปรงฟัน จำนวนรอบที่แปรง สารละลายยาสีฟันที่ใช้ร่วมกับการแปรงฟัน ให้เหมือนกันในทุกกลุ่มมากที่สุดเพื่อลดอคติในการทดสอบ

ผลของการวัดดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันก่อนการทดสอบด้วยการแปรงฟันเพื่อเป็นค่าพื้นฐานนั้น ไม่พบความแตกต่างของดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันระหว่างยี่ห้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแปรงทั้งหมดที่นำมาทดสอบมีลักษณะขนแปรงเป็นแบบหน้าตัดตรงเหมือนกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันหลังจากแปรงฟันด้วยเครื่องแปรงฟันนั้นพบว่าดัชนีการสึกของยี่ห้อ Fluocaril® และ CUdent (8mm) เป็นกลุ่มที่มีดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันสูงกว่า เมื่อพิจารณาจากคุณสมบัติของขนแปรงพบว่าแปรงสีฟันยี่ห้อ Fluocaril® เป็นกลุ่มขนแปรงในลอนที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มขนนุ่มพิเศษและมีความยาวของขนแปรงมากที่สุดในการ

ศึกษาครั้งนี้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขนแปรงเท่ากับ 0.16 – 0.17 มิลลิเมตร หรือเท่ากับเส้นผ่านศูนย์กลางของแปรงสีฟันยี่ห้อ Berman® จากการการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าขนแปรงที่มีความยาวและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากจะมีการสึกของขนแปรงที่มากตามไปด้วย²³ ส่วนแปรงสีฟันยี่ห้อ CUdent (8mm) นั้นถึงแม้ว่าขนแปรงจะมีความยาวไม่เท่ากับ Fluocaril® จัดอยู่ในกลุ่มขนแปรงนุ่ม แต่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของขนแปรงที่เล็กกว่ากลุ่มอื่น ๆ คือมีขนาดเพียง 0.13 – 0.14 มิลลิเมตร ทำให้ความสามารถในการด้านการสึกของขนแปรงน้อยตามไปด้วย จึงเป็นผลให้แปรงสีฟันยี่ห้อ CUdent (8mm) มีดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันสูงใกล้เคียงกับ Fluocaril®

การศึกษานี้พบว่าแปรงสีฟันยี่ห้อ CUdent (7mm) มีดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันน้อยที่สุดแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก Colgate® Berman® และ Kodomo® โดยแปรงสีฟันยี่ห้อ CUdent (7mm) Berman® และ Kodomo® เป็นกลุ่มขนแปรงในลอน ส่วนแปรงสีฟันยี่ห้อ Colgate® เป็นกลุ่มขนแปรงพิบิตี จากการศึกษายอย่างเป็นระบบของ Kreifeldt และคณะพบว่าประสิทธิภาพของแปรงสีฟันในการกำจัดคราบจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับการสึกของแปรงสีฟัน¹⁶ โดยพบว่าประสิทธิภาพของการกำจัดคราบจุลินทรีย์จะลดลงเมื่อแปรงสีฟันสึกมากขึ้นเมื่อเทียบกับแปรงสีฟันที่ยังไม่สึก ดังนั้น การเลือกแปรงสีฟันที่มีการสึกช้าเป็นส่วนสำคัญในการช่วยดูแลสุขภาพช่องปาก และลดอัตราการเปลี่ยนแปรงสีฟัน ซึ่งจากการศึกษานี้ แปรงสีฟัน CUdent (7mm) อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับแปรงสีฟันที่ทนทานและสามารถใช้งานได้นานเนื่องจากมีดัชนีการสึกของขนแปรงที่น้อยกว่ายี่ห้ออื่น ๆ

การศึกษานี้ทดสอบการสึกของแปรงสีฟันโดยใช้จำนวนรอบในการทดสอบรวมทั้งสิ้น 100,000 รอบต่อแปรงสีฟัน 1 ชิ้น ซึ่งแตกต่างไปจากการศึกษาอื่นที่มักจะใช้จำนวนรอบในการทดสอบไม่เกิน 20,000 รอบ เท่านั้น^{17,24,25} รวมถึงมาตรฐานการทดสอบการสึกของพื้นผิวโดยแปรงฟัน ISO/TR 14569-1:2007 ที่แนะนำให้ทดสอบเพียง 10,000 รอบ ด้วยเช่นกัน ซึ่งการศึกษาเหล่านี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบการสึกของผิววัสดุจากการแปรงฟันในห้องปฏิบัติการ ทำให้การทดสอบด้วยการแปรงฟันไม่เกิน 20,000 รอบ นั้นเพียงพอต่อการสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบนผิววัสดุแล้ว ในการศึกษาครั้งนี้ทดสอบการสึกของแปรงสีฟันโดยการแปรงฟันด้วยเครื่อง V8 cross – brushing machine ในห้องปฏิบัติการ หลังจากการแปรงจำนวน 75,000 รอบ ยังไม่สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างของการสึกของขนแปรงสีฟันได้ ผู้วิจัยจึงได้เพิ่มจำนวนรอบมากขึ้นเพื่อให้สามารถสังเกตเห็นการสึกของขนแปรงสีฟันได้ โดยการแปรงฟันเป็นจำนวน 100,000 รอบนั้นสามารถเทียบเท่าได้

กับการใช้แปรงสีฟันเป็นเวลาประมาณ 8 เดือน โดยเทียบจากการใช้แปรงสีฟันในการแปรงฟันเป็นเวลา 2 นาทีต่อครั้ง และแปรงฟัน 2 ครั้งต่อวัน²⁶

สำหรับการศึกษาการสึกของผิวเคลือบฟันจากการแปรงฟันนั้นนิยมศึกษาโดยใช้การเคลือบสารรังสีไวบอนด์ที่ใช้ทำการทดสอบก่อนนำไปเข้าสู่กระบวนการแปรงฟัน จากนั้นจึงวัดสารรังสีที่หลุดออกมาจากการแปรงฟัน หรือ Radioactive dentin abrasion (RDA)¹³ เนื่องจากผิวเคลือบฟันมีความแข็งมากจึงเกิดการสึกได้ยากดังจะเห็นได้ในการศึกษานี้ซึ่งใช้วิธีการวัดค่าเฉลี่ยความขรุขระของผิวเคลือบฟันและค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟัน ซึ่งเป็นการวัดความลึกเฉลี่ยของพื้นผิวและการวัดความลึกของผิวเคลือบฟันที่หายไประหว่างการแปรงฟันเทียบกับพื้นที่อ้างอิงซึ่งไม่ถูกแปรงตามลำดับ²⁷ โดยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยความขรุขระของผิวเคลือบฟันและค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟันจากการแปรงฟันในทุกกลุ่มแปรงสีฟัน ถึงแม้ว่าในการศึกษานี้เลือกใช้แรงในการแปรงฟันที่ 250 กรัม หรือ 2.5 นิวตัน ซึ่งมากกว่าค่าเฉลี่ยของแรงที่ใช้ในการแปรงฟันโดยทั่วไปที่ 1.6 นิวตัน¹² แล้วก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Weigand และคณะใน ค.ศ. 2007 ที่พบว่าการแปรงด้วยแรงต่ำกว่า 4.5 นิวตัน ไม่สามารถทำให้ผิวเคลือบฟันสึกได้²⁸ ผลการทดสอบที่เกิดขึ้นอาจสามารถอนุมานได้ว่าขนแปรงสีฟันในทุกกลุ่มยี่ห้อที่ทำการทดสอบนี้ไม่ทำอันตรายต่อผิวเคลือบฟัน

ขนแปรงสีฟันที่คืนนั้นควรมีความสามารถในการกำจัดคราบจุลินทรีย์บนผิวฟันได้ดี สำหรับแปรงสีฟันใหม่ที่ยังไม่ได้ถูกใช้งานนั้นจะมีขนแปรงอยู่ในลักษณะตรง มีความแข็งและลักษณะของกระดูกขนแปรงที่เหมาะสมในการกำจัดคราบจุลินทรีย์ แต่เมื่อแปรงสีฟันถูกใช้งานไปสักระยะหนึ่งขนแปรงมักจะมีลักษณะโค้งออกด้านข้างจากแนวเดิมของกระดูกขนแปรง หรือมีลักษณะบานออก และเมื่อยิ่งใช้งานไปเรื่อย ๆ ก็จะมีขนบานออกมากขึ้นและสังเกตได้ชัดเจนมากขึ้นโดยมีการเพิ่มขึ้นของพื้นที่หน้าตัดแปรง ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นตัวบ่งบอกที่สำคัญว่าแปรงสีฟันสูญเสียประสิทธิภาพและควรเปลี่ยนแปรงสีฟัน อย่างไรก็ตาม แม้ว่าขนแปรงจะไม่ทำอันตรายต่อผิวเคลือบฟัน แต่หากขนแปรงมีความแข็งเกินไปหรือมีลักษณะปลายขนแปรงที่ไม่กลมมนก็ยังสามารถทำอันตรายต่อเนื้อเยื่ออ่อนในช่องปากได้¹⁰ รวมถึงเมื่อแปรงสีฟันถูกใช้ไประยะหนึ่งแล้วปลายขนแปรงสีฟันจะสึกและเปลี่ยนรูปร่างไปจากเดิมที่มีความกลมมนเป็นมีความเหลี่ยมและแหลมจนสามารถทำอันตรายต่อเนื้อเยื่ออ่อนได้²⁹ สำหรับประเทศไทย มาตรฐาน มอก. ได้กำหนดลักษณะของปลายขนแปรงที่บกร่องหรือไม่มีลักษณะกลมมน ได้ไม่เกินร้อยละ 25 เท่านั้น โดยในการศึกษานี้พบลักษณะของปลายขนแปรงที่บกร่อง

ในแปรงสีฟันก่อนการใช้งานอยู่ที่ร้อยละ 5.33 – 9.33 ซึ่งมีค่าไม่เกินไปจากที่มาตรฐาน มอก. กำหนดไว้แสดงว่าทุกยี่ห้อที่นำมาทดสอบมีลักษณะปลายขนแปรงเป็นไปตามมาตรฐานและไม่ได้มีความแตกต่างกันมาก อย่างไรก็ตาม การที่จะสามารถทราบได้ถึงลักษณะของปลายขนแปรงที่กลมมนนั้น ผู้บริโภคสามารถดูได้จากเพียงฉลากเท่านั้นและเป็นการยากที่ผู้บริโภคจะสามารถรับทราบลักษณะที่แท้จริงของปลายขนแปรงในแต่ละยี่ห้อได้³⁰ ทันตแพทย์จึงมีส่วนสำคัญในการแนะนำข้อมูลของแปรงสีฟัน รวมไปถึงบริษัทผู้ผลิตที่ต้องควบคุมคุณภาพการผลิตให้มีคุณภาพด้วยเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแปรงสีฟันสำหรับเด็กซึ่งยังขาดความสามารถในใช้มือที่แม่นยำ³¹ ขนแปรงสีฟันที่ไม่มีคุณภาพกลมมนอาจทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อในช่องปากได้

เมื่อเปรียบลักษณะของปลายขนแปรงที่รับได้ก่อนและหลังการทดสอบด้วยการแปรงฟันด้วยเครื่อง V8 cross – brushing machine นั้นพบว่าแปรงสีฟัน 5 จาก 6 รุ่นที่ทำการทดสอบมีร้อยละของลักษณะปลายขนแปรงที่ยอมรับได้มากขึ้น โดยมีเพียงยี่ห้อ Colgate® เท่านั้นที่มีร้อยละของลักษณะปลายขนแปรงที่ยอมรับได้ลดลงหลังการทดสอบ เนื่องจากทางบริษัทผู้ผลิตได้ระบุไว้ว่าเป็นขนแปรงสีฟันชนิดพีบีที และมีลักษณะปลายขนแปรงที่เรียวยาว เล็กแหลม คล้ายเข็ม ซึ่งผลจากการดูผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอหลังทดสอบด้วยการแปรงฟันจะพบว่าปลายขนแปรงมีลักษณะปลายขนแปรงที่ยอมรับไม่ได้ชนิดที่ 4 หรือปลายขนแปรงเสียหายและแตกปลายมากขึ้น อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ร้อยละของปลายขนแปรงที่ยอมรับได้จะลดลงหลังการทดสอบแต่ก็ยังผ่านเกณฑ์มาตรฐาน มอก. ในขณะที่ยี่ห้ออื่นมีลักษณะของปลายขนแปรงที่ยอมรับได้เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากปลายขนแปรงที่มีลักษณะแหลมคมหรือบกร่องจะถูกทำให้สึกจากการใช้งานจนกระทั่งมีขนแปรงบางส่วนมีลักษณะกลมมนมากขึ้นสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Massassati และ Frank³² ที่พบว่าลักษณะของปลายขนแปรงหลังจากผ่านการใช้งานมาแล้วจะมีความกลมมนมากขึ้นจากการถูกขัดสีทำให้ส่วนที่เป็นความบกร่องหรือมุมแหลมคมหายไป อย่างไรก็ตาม แม้ว่าลักษณะปลายขนแปรงที่แหลมคมจะมีส่วนสำคัญในการพิจารณาเปลี่ยนแปรงสีฟันเนื่องจากสามารถทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อในช่องปากได้ แต่เป็นสิ่งที่ไม่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า การพิจารณาเปลี่ยนแปรงสีฟันจึงควรพิจารณาการบานหรือการสึกของแปรงสีฟันเป็นส่วนสำคัญ³²

การบานของขนแปรงนั้นเกิดมาได้จากหลายสาเหตุ โดยแบ่งเป็นสาเหตุจากคุณสมบัติทางกายภาพของขนแปรง และสาเหตุจากผู้แปรง สำหรับสาเหตุจากคุณสมบัติทางกายภาพของขนแปรงนั้นโดยทั่วไปแล้ววัสดุที่ใช้ผลิตขนแปรงสีฟันเองนั้นจะมีคุณสมบัติทาง

กายภาพเฉพาะตัวอยู่แล้ว นอกจากนี้ขนแปรงแต่ละชนิดยังมีความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนรูปร่าง (Abrasion resistance) ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงอัตราการสึกของขนแปรง (Abrasion rate)

ในการศึกษาที่ใช้แปรงสีฟันสำหรับเด็กเพียง 5 ยี่ห้อ 6 รุ่นเท่านั้น จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในแปรงสีฟันสำหรับเด็กยี่ห้ออื่น ๆ เพื่อให้ครอบคลุมแปรงสีฟันที่มีจำหน่ายในท้องตลาด อีกทั้งการศึกษานี้ยังเป็นเพียงการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่จำลองการแปรงฟันเพียงบางส่วนเท่านั้น ยังขาดปัจจัยและสภาวะอื่น ๆ ที่มีในช่องปาก เช่น น้ำลาย และคราบจุลินทรีย์ จึงทำให้การศึกษานี้ไม่สามารถบอกถึงคุณสมบัติของการกำจัดคราบจุลินทรีย์ได้ จึงควรมีการศึกษาทางคลินิกในสภาวะการใช้งานจริงเพื่อให้ทราบถึงคุณสมบัติที่ครบถ้วนของแปรงสีฟัน

บทสรุป

การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของขนแปรงสีฟันที่มีจำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 6 รุ่น ด้วยการแปรงฟันด้วยเครื่อง V8 cross – brushing machine พบว่า

1. แปรงสีฟันทุกยี่ห้อที่ทดสอบมีดัชนีการสึกของขนแปรงสีฟันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการแปรงด้วยเครื่องแปรงฟัน ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม CUdent (7mm) Berman® Colgate® และ Kodomo® แต่แปรงสีฟันยี่ห้อ Fluocaril® และ CUdent (8mm) มีการสึกของขนแปรงสีฟันมากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

2. ร้อยละของลักษณะของปลายขนแปรงที่ยอมรับได้ก่อนและหลังการทดสอบผ่านเกณฑ์มาตรฐานทุกยี่ห้อที่นำมาทดสอบโดยแปรงสีฟันส่วนใหญ่มีร้อยละของปลายขนแปรงที่ยอมรับได้มากขึ้นหลังจากผ่านการใช้งานแล้ว ยกเว้นยี่ห้อ Colgate®

3. แปรงสีฟันทั้งหมดที่ทดสอบไม่ทำให้ผิวเคลือบฟันน้ำนมสึกโดยพบว่าค่าเฉลี่ยความลึกการสึกของผิวเคลือบฟันน้ำนมจากการแปรงฟันไม่แตกต่างกัน

เอกสารอ้างอิง

1. Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent* 2004;32(8):591-602.
2. Marsh PD, Head DA, Devine DA. Ecological approaches to oral biofilms: control without killing. *Caries Res* 2015;49 Suppl 1:46-54.
3. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994;8(2):263-71.
4. Haffajee AD, Smith C, Torresyap G, Thompson M, Guerrero D, Socransky SS. Efficacy of manual and powered toothbrushes (II). Effect on microbiological parameters. *J Clin Periodontol* 2001; 28(10):947-54.

5. Golding PS. The development of the toothbrush. A short history of tooth cleansing. Part 1. *Dent Health* 1982;21(4):25-7.
6. Smith C. Toothbrush technology--even the Pharoahs brushed their teeth. *J Dent Technol* 2000;17(4):26-7.
7. Baruah K, Kumar Thumpala V, Khetani P, Baruah Q, Tiwari R, Dixit H. A review on toothbrushes and tooth brushing methods. *Int J Pharm Sci Invent* 2017;6(5):29-388.
8. Kweon YJ-Hd, Dongjak-ku, Seoul 156-071, KR), inventor; Cheil Jedant Corporation (Seoul, KR), Kweon, Young Jun (Seoul, KR), assignee. Tapered toothbrush bristle and toothbrush with said bristles, and methods for producing the same. United States 2000.
9. Rosema NA, Hennequin-Hoenderdos NL, Versteeg PA, van Palenstein Helderman WH, van der Velden U, van der Weijden GA. Plaque-removing efficacy of new and used manual toothbrushes--a professional brushing study. *Int J Dent Hyg* 2013;11(4):237-43.
10. Versteeg PA, Piscaer M, Rosema NA, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Tapered toothbrush filaments in relation to gingival abrasion, removal of plaque and treatment of gingivitis. *International journal of dental hygiene*. 2008;6(3):174-82.
11. Tangade PS, Shah AF, Ravishankar TL, Tirth A, Pal S. Is plaque removal efficacy of toothbrush related to bristle flaring? A 3-month prospective parallel experimental study. *Ethiop J Health Sci* 2013; 23(3):255-64.
12. Wiegand A, Burkhard JP, Eggmann F, Attin T. Brushing force of manual and sonic toothbrushes affects dental hard tissue abrasion. *Clin Oral Investig* 2013;17(3):815-22.
13. González-Cabezas C, Hara AT, Hefferren J, Lippert F. Abrasivity testing of dentifrices - challenges and current state of the art. *Monographs in oral science*. 2013;23:100-7.
14. Wegehaupt FJ, Hoegger VGM, Attin T. Abrasion of eroded and sound enamel by a dentifrice containing diamond abrasive particles. *Swiss dental journal*. 2017;127(7-8):634-9.
15. Sforza NM, Rimondini L, Di Menna F, Camorali C. Plaque removal by worn toothbrush. *J Clin Periodontol* 2000;27:212-6.
16. Van Leeuwen MPC, Van der Weijden FA, Slot DE, Rosema MAM. Toothbrush wear in relation to toothbrushing effectiveness. *Int J Dent Hyg* 2019;17(1):77-84.
17. Schemehorn BR, Moore MH, Putt MS. Abrasion, polishing, and stain removal characteristics of various commercial dentifrices *in vitro*. *J Clin Dent* 2011;22(1):11-8.
18. Moeintaghavi A, Sargolzaie N, Rostampour M, Sarvari S, Kargozar S, Gharaei S. Comparison of Three types of Tooth Brushes on Plaque and Gingival Indices: A Randomized Clinical Trial. *Open Dent J* 2017;11:126-32.
19. Choi Y-j, Lee S, Jeon C-E, Choi J-O. A study on toothbrush wear index and wear rate in some kindergarten children. *Curr Pediatr Res* 2017;21(4):5.
20. Rawls HR, Mkwai-Tulloch NJ, Casella R, Cosgrove R. The measurement of toothbrush wear. *J Dent Res* 1989;68(12):1781-5.
21. Koo TK, Li MY. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med* 2016;15(2):155-63.
22. Fleiss JL, Levin BA, Paik MC. Statistical methods for rates and proportions. 3rd ed. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience; 2003.
23. Kaneyasu Y, Shigeishi H, Ohta K, Sugiyama M. Changes in the Bristle Stiffness of Polybutylene Terephthalate Manual Toothbrushes over 3 Months: A Randomized Controlled Trial. *Materials (Basel, Switzerland)* 2020;13(12).
24. Schemehorn BR, Zwart AC. The dentin abrasivity potential of a new electric toothbrush. *Am J Dent* 1996;9 Spec No:S19-20.
25. White DJ, Schneiderman E, Colon E, St John S. A profilometry-based dentifrice abrasion Method for V8 brushing machines. Part I: Introduction to RDA-PE. *J Clin Dent* 2015;26(1):1-6.
26. Creeth JE, Gallagher A, Sowinski J, Bowman J, Barrett K, Lowe S, *et al*. The effect of brushing time and dentifrice on dental plaque removal in vivo. *J Dent Hyg* 2009;83(3):111-6.
27. White DJ, Schneiderman E, Colon E, St John S. A profilometry-based dentifrice abrasion Method for V8 brushing machines. Part I: Introduction to RDA-PE. *J Clin Dent* 2015;26(1):1-6.
28. Wiegand A, Köwing L, Attin T. Impact of brushing force on abrasion of acid-softened and sound enamel. *Arch Oral Biol* 2007; 52(11):1043-7.
29. Hennequin-Hoenderdos N, Slot D, Van der Sluijs E, Adam R, Grender J, Van der Weijden G. The effects of different levels of brush end rounding on gingival abrasion: a double-blind randomized clinical trial. *Int J Dent Hyg* 2017;15(4):335-44.
30. Sasan D, Thomas B, Mahalinga BK, Aithal KS, Ramesh PR. Toothbrush selection: a dilemma? *Indian J Dent Res* 2006;17(4):167-70.
31. Unkel JH, Fenton SJ, Hobbs G, Jr., Frere CL. Toothbrushing ability is related to age in children. *ASDC J Dent Child* 1995;62(5):346-8.
32. Massassati A, Frank RM. Scanning electron microscopy of unused and used manual toothbrushes. *J Clin Periodontol* 1982;9(2):148-61.

Cytotoxicity Evaluation of Herbal Mouthwashes Containing Ginseng Extract on Human Gingival Fibroblast-like Cells: An *In Vitro* Study

Nattanun Tansiri¹, Titikan Ruensukon¹, Warat Hatsadaloi¹, Vorapat Trachoo², Yossakit Lochaiwatana³, Arunee Laiteerapong³

¹Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

³CU Dental Innovation Center, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Abstract

The study aimed to find an optimal concentrations of novel herbal mouthwashes which do not cause cytotoxicity to human gingival fibroblast-like cells (HGFs), according to ISO 10993-5, and to compare their cytotoxic effect to CUdent Stevia Fluoride™ mouthwash on HGFs. Three herbal extracts, ginseng (G), peppermint (P), and licorice (L), were dissolved in 25% v/v diluted CUdent Stevia Fluoride™ mouthwash to find the maximum dissolution. An optimal concentration of each herbal extract was evaluated by MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. The determined concentration was used to formulate the ginseng mouthwash solutions into two groups, ginseng-peppermint (GP) and ginseng-licorice (GL). Each group was tested once again by MTT assay to compare its cytotoxicity. One-sample *t*-test was used to analyze the determination of the cytotoxicity and one-way ANOVA to compare the cytotoxic effect between each group. The maximum dissolution of ginseng, peppermint, and licorice extract in CUdent Stevia Fluoride™ mouthwash was 5, 5, and 0.5 mg/mL respectively with no statistically significant cytotoxic effect (%viability $\geq 70\%$, $p > 0.05$). When the novel mouthwashes were prepared, there was no statistically significant cytotoxic effect in any formulation (%viability $\geq 70\%$, $p > 0.05$). Therefore, the cytotoxic effects on HGFs of every formulation were compared with CUdent Stevia Fluoride™ mouthwash, and they showed less cytotoxic effect ($p < 0.05$). It can be concluded that the optimum concentration of ginseng, peppermint, and licorice extract is 0.5, 0.5, and 0.05 mg/mL. All formulas of ginseng mouthwashes in this study; pure ginseng solution (Gsol), ginseng-peppermint (GP), and ginseng-licorice (GL) showed less cytotoxic effect than the CUdent Stevia Fluoride™ mouthwash.

Keywords: Cytotoxicity, Ginseng mouthwash, Herbal mouthwash, Human gingival fibroblast-like cells

Received Date: Mar 17, 2022

Revised Date: Apr 4, 2022

Accepted Date: Jun 6, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.50

Correspondence to:

Vorapat Trachoo, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, 34 Henri Dunant Road, Wangmai, Patumwan, Bangkok, 10330, Thailand. Tel: 02-2188581 Fax: 02-2188581 E-mail: vtrachoo@gmail.com

Introduction

The periodontal disease is an inflammatory disease that affects periodontium or supporting structures of teeth.¹ Oral biofilm is considered the main etiologic factor for the development of periodontitis. Thus, plaque control is an effective method in the elimination of biofilm by mechanical and chemical means.^{2,3} However, mechanical plaque control is restricted in some specific circumstances, for example, after oral surgery. In this situation, antimicrobial mouthwash could be used as chemical plaque control to delay biofilm accumulation together with tooth brushing and flossing.⁴ Several antimicrobial chemical agents such as chlorhexidine (CHX) and cetylpyridinium chloride have been used. However, these chemical agents have unpleasant side effects such as taste stimulation and alteration, and staining on tooth surface and tongue, especially in a prolonged usage.⁵ CHX is also cytotoxic, as reported for human gingival fibroblasts and osteosarcoma cells.⁶ Currently, toxicity for oral cells is of potential concern. Therefore, nontoxic herbal mouthwashes using various herbs and plant extract have been introduced.

CU Dental Innovation Center has developed an herbal mouthwash containing stevia and peppermint extract. Peppermint oil has antimicrobial activity with minimum inhibitory concentration (MIC) ranging from 0.4% to 0.7% v/v depending on bacterial species.⁷ Furthermore, it contains many components that have antioxidant activity, such as phenolic acids (eg. caffeic acid), flavones (eg. luteolin derivatives), and flavanones (eg. eriocitrin derivatives).⁸ Stevia used as a sweetener has been extensively reviewed and approved as a food supplement in several countries.^{9,10} Both peppermint and stevia have been reported to be associated with improving periodontal health.^{11,12}

Licorice belongs to the genus *Glycyrrhiza*. It is one of the most popular natural agents in herbal mouthwashes. This extract has been used in treating gingivitis and periodontal diseases because of their antimicrobial and antioxidant

effects.¹³⁻¹⁶ In addition, licorice root extract has an antimicrobial effect on *P.gingivalis* with MIC of 62.5 µg/ml and MBC of 25 µg/ml and also affects the biofilm formation.¹⁷

Ginseng extract is now of interest for many researchers as it possesses plenty of medicinal values. It has been used in many forms such as orally or topically, especially in skin care products.¹⁸ Ginseng root and leaf extract has antimicrobial, antioxidant effects and enhances immune response.¹⁹⁻²¹ Lee *et al.*²² proposed that ginseng had anti-adhesive effects against certain periodontal pathogens. Ginseng used as an ingredient in many herbal mouthwashes and is proven its efficacy by comparing with commercially available mouthwashes and chlorhexidine.^{23,24} Therefore, ginseng could be used as one of the essential ingredients in herbal mouthwash to improve periodontal status.

However, the International Standard for Oral hygiene products-Oral Rinses (ISO 16408) has identified that compatibility with oral tissues should be in accordance with ISO 10993-5 when assessing possible biological or toxicological hazards. Consequently, a compatibility test using the ISO 10993 method is required for developing herbal-containing mouthwash. The cytotoxicity test through the MTT assay is also a part of the process which indicates that if the cell viability is less than 70%, there is a possibility of cytotoxicity.²⁵ Generally, the oral mucosa comes in contact with the mouthwash when the oral cavity is flushed. However, in cases of injury, mouthwash also comes in contact with the underlying gingival connective tissue.²⁶ Human gingival fibroblasts are commonly used to mimic connective tissue exposure to mouthwashes and to investigate cell-induced stress.^{27,28} The purpose of this study was to find an optimal concentrations of novel herbal mouthwashes which do not cause cytotoxicity to human gingival fibroblast-like cells (HGFs), according to the ISO 10993-5, and to compare their cytotoxic effect to CUdent Stevia Fluoride™ mouthwash on HGFs.

Materials and Methods

1. Mouthwash preparation

The following herbal extracts were dissolved in 25% v/v CUDent Stevia Fluoride mouthwash (CUSF) (Fig 1) from 0.02% - 2% (w/v) to define the maximum dissolution: G = Ginseng root extract (Novanat, China); P = Peppermint powdered extract (Plantextrakt, Germany); and L = Licorice powdered extract (Plantextrakt, Germany).

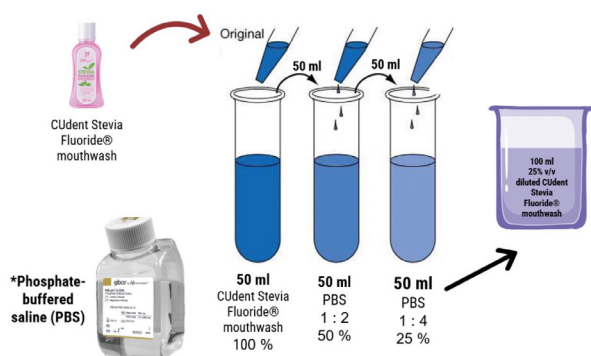


Figure 1 Preparation of 25% v/v diluted CUDent Stevia fluoride mouthwash

After the maximum dissolution of each herbal extract was defined (5 mg/mL of ginseng extract, 5 mg/mL of peppermint extract, and 0.5 mg/mL of licorice extract), the solution with less than or equal to the maximum dissolution was prepared for the cytotoxicity test through the MTT assay to define the optimum concentration (the maximum concentration which had no cytotoxicity effects to HGFs). The solution with an optimal concentration of G, P, and L was defined as G_{opt} , P_{opt} , and L_{opt} respectively.

The optimal concentrations were used to formulate 3 mouthwash groups; pure ginseng solution (G_{sol}), ginseng-peppermint (GP), and ginseng-licorice (GL). G_{sol} with various concentrations was prepared for the MTT assay in the previous step. GP was prepared in the following 5 formulations, which were made up of various proportions of G_{opt} and P_{opt} : $0.9G_{opt} + 0.1P_{opt}$; $0.7G_{opt} + 0.3P_{opt}$; $0.5G_{opt} + 0.5P_{opt}$; $0.3G_{opt} + 0.7P_{opt}$; and $0.1G_{opt} + 0.9P_{opt}$. GL was prepared in the following 5 formulations, which were made up of various proportions of G_{opt} and L_{opt} : $0.9G_{opt} + 0.1L_{opt}$; $0.7G_{opt} + 0.3L_{opt}$; $0.5G_{opt} + 0.5L_{opt}$; $0.3G_{opt} + 0.7L_{opt}$; and $0.1G_{opt} + 0.9L_{opt}$. Then GP and GL were prepared for the cytotoxicity test through the MTT assay.

2. Cell preparation

HGFs were obtained from healthy patients who underwent impacted tooth removal according to normal treatment plan at the Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University. The necrotic tissue was excluded. The samples were washed in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Sigma-Aldrich Chemie, GmbH, Steinheim, Germany) supplemented with 1% v/v L-Glutamine (Gibco, Brazil), and 10% v/v Antibacterial-Antimycotic (Gibco, USA). The tissues were cut into 0.5x0.5 cm in size and placed in a new culture plate and then add to the culture media, DMEM supplement with 1% v/v L-Glutamine, 1% v/v Antibacterial-Antimycotic, and 10% v/v Fetal Bovine Serum (FBS) (Gibco, USA) at 37°C, 5% v/v CO₂, and 95% humidity.

After 5-7 days of incubation, the investigators examined the tissues under a microscope to ensure that fibroblast-like cells can be seen outside of the sample tissue and adhere to the surface of the plate. Culturing the cells until the 80-90% confluence was reached (changing of culture media every 3 days). The sample tissues were removed using forceps. Aspirating old culture media and washing with phosphate-buffered saline (PBS) solution were performed. 0.25% v/v Trypsin-EDTA 1 mL was added and incubated for one minute at 37°C, 5% v/v CO₂, and 95% humidity. The fetal bovine serum (FBS) (200 μ l) was also added to inhibit the activity of trypsin enzyme. Cells were harvested and transferred into a 15 mL centrifuge tube. Centrifuging (Hermle LaborTechnik GmbH - Z 323 Universal High-Speed Centrifuge) at 3000 rpm for three minutes was performed. The supernatant was then aspirated, and the pellet was resuspended in culture media. Cell suspension was occasionally pipetted up and down to prevent the cells from settling and to ensure a uniform solution. Cells were counted and/or divided into a new culture dish to repeat the subculture procedure until the appropriate passage was reached.

The study protocol was approved by the Human Research Ethics Committee, Faculty of Dentistry of Chulalongkorn University (HREC-DCU 2020-046).

3. Cytotoxicity test

When the third or fourth passage was reached, cell cultures were taken from the culture flask. Cells were resuspended in culture media and the suspension was adjusted to a density of 1×10^5 cell/mL before being dispensed into a 96-well tissue culture microtiter plate with a capacity of 100 µl each and was incubated for 24 hours at 37°C, 5%CO₂, and 95% humidity (Fig 2). A phase-contrast microscope was used to inspect each plate to ensure that cell growth was relatively uniform across the microtiter plate. Cell culture media was removed, and 100 µl of either the appropriate concentration of sample solution, negative control (culture media), positive control (non-ionic surfactant and emulsifier, TritonTMX-100), or blank (culture media in an empty well) was added according to ISO 10993-5. The sample solution was left on the cells for one minute before being withdrawn since the recommended treatment time when using mouthwash

was for 30 seconds to 1 minute. The wells were gently rinsed with PBS and 100 µl culture media was added.

The culture media was removed after 24 hours of treatment and the plates were re-examined, and 50 µl of MTT solution (1 mg/ml) was added to each test well. The plates were incubated for another 2 hours at 37°C, 5%CO₂, and 95% humidity. The MTT solution (1 mg/ml) was discarded, and each well was filled with 100 µl of DMSO (Dimethyl sulfoxide for cell culture), (Sigma-Aldrich Chemie, GmbH, Steinheim, Germany). The experiment was done intriplicate. The plates were swayed and prepared for cell counting with a 570 nm filter to read the absorbance (OD570). The cell viability of HGFs of each herbal extract solution was analyzed quantitatively by an ELISA Reader (Bio-Tek Microplate Spectrophotometer Epoch II, Winooski, Vermont USA). All formulations of novel herbal mouthwashes were also tested and compared to CUSF (Fig 3).

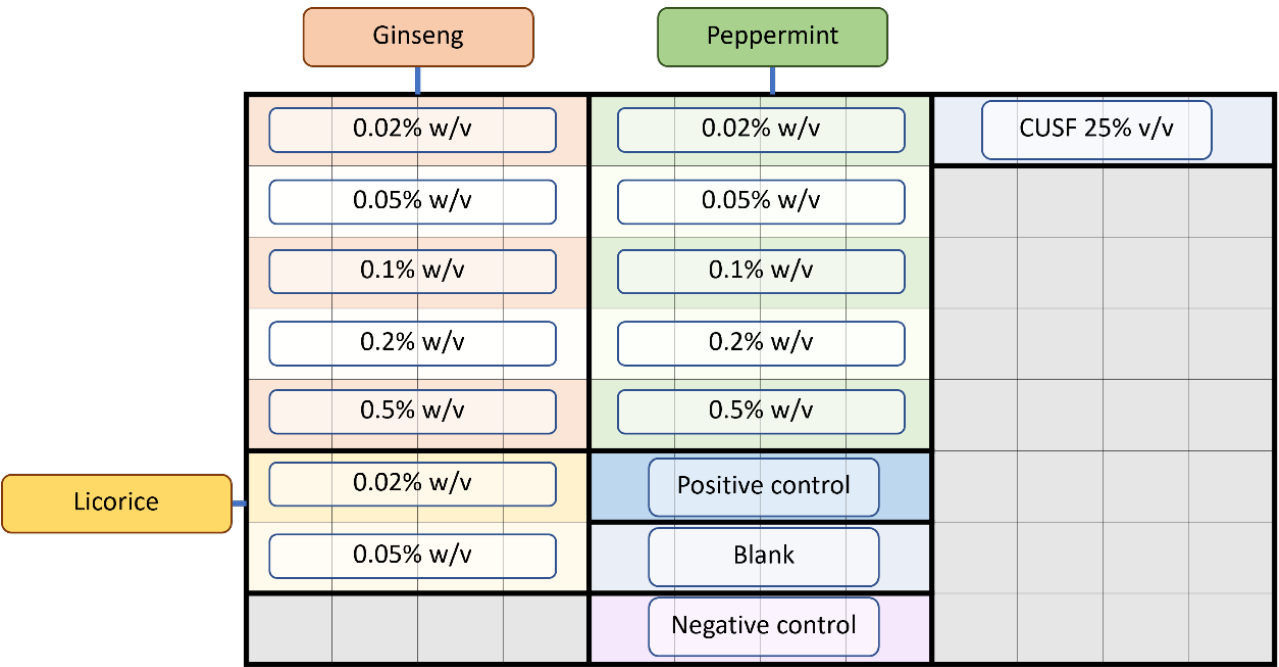


Figure 2 The assay layout on a 96-well plate of three herbal extract solutions and in 25% v/v Cudent Stevia Fluoride mouthwash (CUSF)

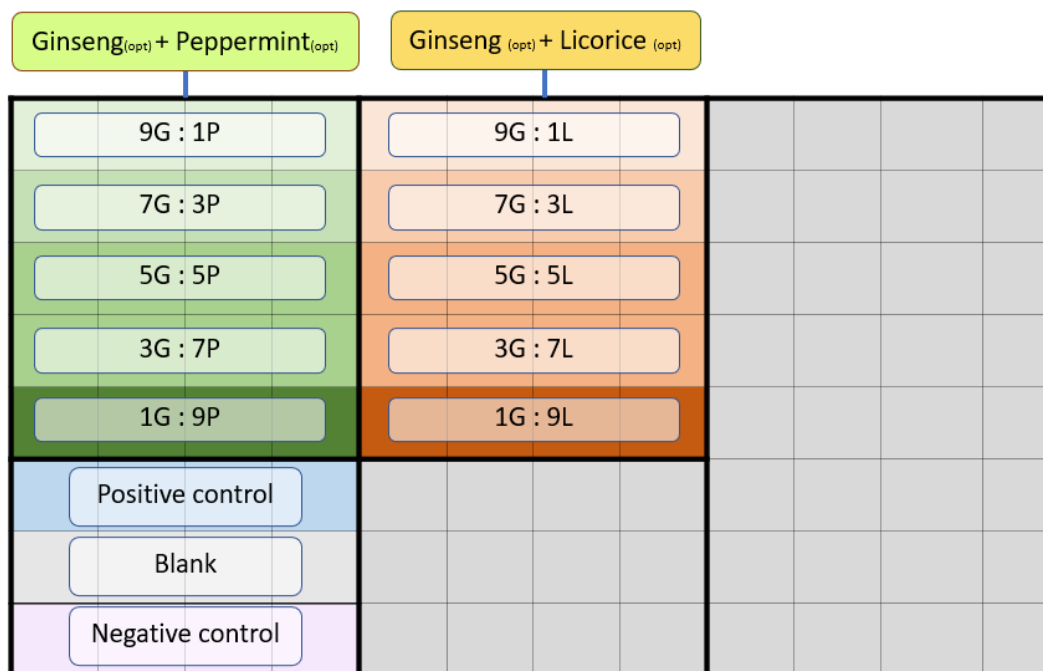


Figure 3 The assay layout on a 96-well plate of the two formulations of novel mouthwash solutions (ginseng-peppermint and ginseng-licorice)

The reduction of viability was determined based on the blank (%Viability) and calculated by the following equation.

$$\text{Viability \%} = \frac{\text{OD}_{570e}}{\text{OD}_{570b}} \times 100$$

where

OD_{570e} is the mean value of the measured optical density of the 100% extracts of the test sample.

OD_{570b} is the mean value of the measured optical density of the blanks.

Statistical analysis

Data analysis were performed utilizing the SPSS (IBM SPSS Statistic Version 26, SPSS Inc, Chicago, USA). The mean values of %viability, standard deviation, and 95% confidence interval were calculated for each group. One sample *t*-test was used for the assessment of statistical significance of cytotoxic potential of each group after the normality of data sample was tested by Shapiro-Wilk test. Cytotoxicity was defined as test samples with the %viability

statistically less than 70%. One-way Analysis of variance followed by Dunnett's post hoc test was used to analyze the cytotoxic potential compared to CUDent Stevia Fluoride™ mouthwash. A *p*-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

The optimal concentration of P, G, and L were found to be 0.5% w/v, 0.5% w/v, and 0.05% w/v with the mean value of %viability equals to 143.55, 96.30, and 108.70, respectively (Table 1). Moreover, no significant difference was identified between each herbal extract solution.

For the cytotoxic potential of novel mouthwashes formulated in this study, none of the mouthwashes had a significant cytotoxic effect on HGFs and had significantly higher %viability than the CUDent Stevia Fluoride™ mouthwash (Table 2).

Table 1 Mean, standard deviation, and 95% confidence interval of %viability of each herbal extract solution in various concentrations

Herbal extract solution	Mean (SD) of %Viability	95% Confidence interval		Shapiro-Wilk (p-value)
		Lower	Upper	
Peppermint				
0.02% w/v	139.54(26.14) ^a	118.22	160.85	0.371
0.05% w/v	138.95(27.14) ^a	116.82	161.08	0.073
0.1% w/v	140.71(25.58) ^a	119.85	161.56	0.550
0.2% w/v	138.14(24.74) ^a	117.97	158.31	0.448
0.5% w/v	143.55(24.67) ^a	123.44	163.66	0.412
Ginseng				
0.02% w/v	108.57(27.00) ^a	86.55	130.59	0.684
0.05% w/v	117.79(21.13) ^a	100.57	135.02	0.269
0.1% w/v	116.37(21.70) ^a	98.68	134.07	0.593
0.2% w/v	111.14(24.12) ^a	91.47	130.80	0.849
0.5% w/v	96.30(7.14) ^a	90.26	102.34	0.214
Licorice				
0.02% w/v	85.21(24.28) ^a	65.42	105.01	0.366
0.05% w/v	108.70(10.57) ^a	100.08	117.31	0.313
Control				
Positive control	0(0)	-	-	-
Negative control	100.00(5.06) ^a	98.00	102.00	0.733

^aThe %Viability is not significantly lower than 70, which represents no cytotoxic potential. (ISO 10993-5)

Table 2 Mean, standard deviation, and 95% confidence interval of %viability of novel herbal mouthwashes formulated in this study, Gsol, and CUSF mouthwash

Mouthwash	Mean (SD) of %Viability	95% Confidence interval		Shapiro-Wilk (p-value)
		Upper	Lower	
GP mouthwashes				
0.9G _{opt} +0.1P _{opt}	97.27(5.54) ^{a,b}	93.75	100.79	0.096
0.7G _{opt} +0.3P _{opt}	107.14(5.86) ^{a,b}	103.42	110.87	0.496
0.5G _{opt} +0.5P _{opt}	118.62(5.18) ^{a,b}	115.33	121.91	0.532
0.3G _{opt} +0.7P _{opt}	127.92(6.05) ^{a,b}	124.08	131.76	0.724
0.1G _{opt} +0.9P _{opt}	142.99(6.69) ^{a,b}	138.74	147.24	0.323
GL mouthwashes				
0.9G _{opt} +0.1L _{opt}	93.96(7.78) ^{a,b}	89.01	98.90	0.779
0.7G _{opt} +0.3L _{opt}	87.41(5.39) ^{a,b}	83.99	90.84	0.772
0.5G _{opt} +0.5L _{opt}	84.90(4.53) ^{a,b}	82.02	87.78	0.596
0.3G _{opt} +0.7L _{opt}	88.60(4.28) ^{a,b}	85.88	91.32	0.599
0.1G _{opt} +0.9L _{opt}	85.65(8.67) ^{a,b}	80.14	91.15	0.558
CUSF	77.39(8.59) ^a	71.93	82.85	0.628
Control				
Positive control	0(0)	-	-	-
Negative control	100.00(8.02) ^{a,b}	97.47	102.53	0.090

^aThe %Viability is not significantly lower than 70, which represents no cytotoxic potential. (ISO 10993-5)

^bStatistically significant difference from CUSF (p<0.05).

Discussion

The purposes of the present *in vitro* study were to find an optimal concentrations of novel herbal mouthwashes which do not cause cytotoxicity to HGFs, according to the ISO 10993-5, and to compare their cytotoxic effect to Cudent Stevia Fluoride™ mouthwash on HGFs. The results showed that the three herbal mouthwashes including G_{sol}, GP, and GL had no cytotoxic effect more than the CUSF which is used as a solvent. These findings supported that addition of herbs containing ingredients increases antioxidant properties of mouthwash.^{13,14} Reactive oxygen species (ROS) are by-products of normal cell activity that play a role in cellular signaling. Overproduction of ROS at high levels induces cellular damage and cell death under oxidative stress, which is an imbalance between free radicals and antioxidants. An antioxidant system, in which antioxidant enzymes remove ROS, is used to keep ROS at tolerable levels.²⁵ In our study, the chemical substances in CUSF which are similar to commercially available mouthwashes can cause oxidative stress because the components not only contain Stevia as an active compound, but also contain other substances such as fluoride which promotes cell stress, including endoplasmic reticulum stress and oxidative stress. As a result of the stress, ameloblasts that are responsible for the creation of dental enamel are malfunctioned leading to dental fluorosis.²⁶ Consequently, the addition of the herb extracts could eliminate ROS, prevent cellular stress, and decrease cytotoxicity. Moreover, the herbal extracts mixed in CUSF might have an active effect particularly increasing cell viability and decreasing cell toxicity of CUSF. Interestingly, our results demonstrated that peppermint extract may have some potential effect on cell proliferation based on GP results. There has been limited data available on the mechanism of peppermint effect on gingival fibroblast cell growth, however, Modarresi *et al*²⁷ stated that *Mentha piperita* essential oil might be utilized to accelerate wound healing in infected mice by lowering bacterial count, edema, and inflammation while enhancing fibroblast migration, collagen synthesis, and re-epithelization.

Therefore, a mechanism of cell proliferation could not be described clearly because there are many factors affecting the process, especially inflammatory cells that play a role in the wound healing. The study implies that there is an increase in fibroblast cell proliferation, so it is interesting that it could be further investigated.

It should be noted that oral keratinocytes are the more appropriate cellular model for testing the cytotoxicity of mouthwash as they indeed are the cells that are in contact with mouthwash during usage. However, the present study aims to investigate the cytotoxicity according to the standard protocol described in ISO 10993-5 which indicates that fibroblast should be used as the cellular model. Further investigation regarding the cytotoxicity in oral keratinocytes is necessitated.

In the present study, the CUSF formulation was diluted with PBS to 25% v/v CUSF to simulate the oral cavity condition because PBS has properties like saliva such as buffer capacity, pH, coefficient of friction, and corrosion parameters.^{28,29} Mystkowska *et al*.²⁸ reported that solvents including chlorhexidine (CHX), and neem extract solution were regarded as 100% solutions and were diluted into 0.1%, 1.0%, 10%, 25%, 50%, and 75% v/v for experimental purposes as in our pilot study. These findings supported that both CHX and neem extract demonstrated the mouthwash's cytotoxicity, with cells dying at 50% and 100% v/v concentrations, respectively. However, our study used 25% v/v CUSF owing to 50%v/v CUSF that was tested in our pilot study resulted in low cell viability (less than 70%viability) in some of replicates. Conversely, 25% v/v CUSF resulted in high cell viability (higher than 70%viability) in all replicates. The HGFs cells were also treated with mouthwash for 1 min, 5 mins, and 10 mins. However, treatment time for 30 seconds to 1 minute is the recommended time for mouthwash.

The maximum amount of herbs that can be dissolved without precipitation immediately after mixing in our pilot investigation was 0.2 g of herbs in 10 mL of solvent, the upper limit of the concentration range was

set at 2% w/v. Therefore, the precipitate emerged in solutions containing more than 0.05% w/v of licorice and more than 0.5% w/v of peppermint or ginseng. Furthermore, we chose 0.02% w/v as the lower limit of the concentration range because 0.02% w/v solution is made by combining 0.002 g of herbs with 10 mL of solvent, and 0.002 g is the smallest amount we can make with the least amount of mistake when preparing numerous times. Consequently, the concentration range was set at 0.02-2% w/v. The formulations aimed to see whether herbal mouthwashes had a cytotoxic effect on HGFs at different concentrations, but the therapeutic effect on the cells was not considered.

Interestingly, a mouthwash formula having only licorice has a cytotoxic impact that is inversely proportional to its concentration, which is the same as in a formula containing only peppermint in this study. It is most likely because the anti-cell-death components in the herbs are more concentrated, but the conclusion is unclear because we only had licorice in mouthwash at two concentrations in this study. However, the cytotoxic effect of mouthwashes containing both licorice and ginseng is increased when extra licorice is added. The cytotoxic effect may have been amplified by a chemical interaction between the components of each herb.

The mechanism of combined licorice and ginseng in the cells is unknown. The evidence of potential interaction between licorice and ginseng is limited. However, Popovich *et al.*³⁰ reported that the effects of ginseng and licorice extract combinations increase hepatocarcinoma cell viability and there were more cytotoxic than individual extract. On the other hand, our study showed that the combinations of extract were less cytotoxic because their actions were antagonistic rather than synergistic. The active compounds in ginseng and licorice extract may compete for the same cellular receptor, which could explain the antagonistic effect on cell viability. The discrepancy could be since the effect of combined licorice and ginseng on each cell were distinct, necessitating further investigation to validate their effects.³¹

There is a wide variety of herbal mouthwashes commonly used in the market. Besides active ingredients i.e. herbal extract, the other component may also differ among formulas. Sweetener is one of the key components to suit the user experience. The CUSF contains stevia as the sweetener while sodium saccharin is commonly used in general mouthwashes. In addition, CUSF contains fluoride which effectively prevents dental caries. However, the herbal mouthwash in general exhibits antimicrobial activity which also reduces the potential of caries formation as the cariogenic related bacteria is reduced. Other chemical agents are also introduced in the herbal mouthwash formula for other specific purposes i.e. adjuvant, solvent, or preservatives. Hence, the effect of a herbal mouthwash containing similar active herbal extract cannot be compared to those available in the market as the other components in the formula differ. According to the results of this study, although we found the proper concentrations for the novel mouthwash formulation, our study focused on cytotoxicity of novel herbal mouthwash, not the efficacy. The present study was in accordance with the ISO 10993-5.

The three selected herbs which are ginseng, peppermint, and licorice in the mouthwash did not show cytotoxicity to the tested cells, implying the safe application. These findings are also consistent with previous studies.^{5,6,31,32} It may be concluded that the commercially available mouthwash which contains these active ingredients above the proper concentration could lead to cytotoxicity.

Conclusion

The optimal concentrations, which show no cytotoxicity according to ISO 10993-5 regarding the biological evaluation of medical devices, of ginseng, peppermint, and licorice extract in our novel herbal mouthwashes are 0.5, 0.5, and 0.05 mg/mL respectively. All three formulations of ginseng mouthwash which are G_{sol} , GP, and GL show less cytotoxic effect than CUSF. Further studies should evaluate therapeutic effect of

novel herbal mouthwashes and compare with commercially available mouthwashes and CHX for the treatment of periodontal diseases.

Acknowledgments

The authors sincerely appreciate Biomaterial Testing Center for providing laboratory equipment, Miss. Budsaraporn Boonsuth; Research assistant of CU Dental Innovation Center and Mr. Theerapat Chanamuangkon; Scientific staff of Biomaterial Testing Center for technical support and advice on laboratory use. We also thank Professor Dr. Thanapoom Osathanon for suggestion and language editing.

References

1. Chapple IL, Van der Weijden F, Doerfer C, Herrera D, Shapira L, Polak D, *et al.* Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *J Clin Periodontol* 2015;42(6):71-6.
2. Solderer A, Kaufmann M, Hofer D, Wiedemeier D, Attin T, Schmidlin PR. Efficacy of chlorhexidine rinses after periodontal or implant surgery: A systematic review. *Clin Oral Investig* 2019;23(1):21-32.
3. Mombelli A. Maintenance therapy for teeth and implants. *Periodontol 2000* 2019;79(1):190-9.
4. Zimmer S, Kolbe C, Kaiser G, Krage T, Ommerborn M, Barthel C. Clinical efficacy of flossing versus use of antimicrobial rinses. *J Periodontol* 2006;77(8):1380-5.
5. Dutt D, Rathore PK, Khurana D. Chlorhexidine - An antiseptic in periodontics. *IOSR JDMS* 2014;13(9):85-8.
6. G. John, J. Becker, and F. Schwarz, Effects of taurolidine and chlorhexidine on SaOS-2 cells and human gingival fibroblasts grown on implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014; 29(3):728-734.
7. Singh R, Shushni MAM, Belkheir A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arab J Chem* 2015;8(3):322-8.
8. Riachi LG, De Maria CAB. Peppermint antioxidants revisited. *Food Chem* 2015;176:72-81.
9. Kinghorn AD: *Stevia: the Genus Stevia (Medicinal and Aromatic Plants: Industrial Profiles)*. New York, Taylor and Francis/CRC Press, 2002.
10. Debnath M: Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. *JMPR* 2008;2(2):245-251.
11. Dagli N, Dagli R, Mahmoud RS, Baroudi K. Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review. *J Int Soc Prev Community Dent* 2015;5(5):335-40.
12. Haghighi R, Abbasi F. Evaluation of the use of a peppermint mouth rinse for halitosis by girls studying in Tehran high schools. *J Int Soc Prev Community Dent* 2013;3(1):29-31.
13. Wittschier N, Faller G, Beikler T, Stratmann U, Hensel A. Polysaccharides from *Glycyrrhiza glabra* L. exert significant anti-adhesive effects against *Helicobacter pylori* and *Porphyromonas gingivalis*. *Planta Medica* 2006;72(11):238.
14. La VD, Tanabe S-i, Bergeron C, Gafner S, Grenier D. Modulation of matrix metalloproteinase and cytokine production by licorice isolates licoricidin and licorisoflavan A: potential therapeutic approach for periodontitis. *J Periodontol* 2011;82(1):122-8.
15. Ortiz-Viedma J, Romero N, Puente L, Burgos K, Toro M, Ramirez L, *et al.* Antioxidant and antimicrobial effects of stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) extracts during preservation of refrigerated salmon paste. *Eur J Lipid Sci Technol* 2017;119(10):1600467.
16. Li S, Chen T, Dong S, Xiong Y, Wei H, Xu F. The effects of Rebaudioside A on microbial diversity in mouse intestine. *Food Sci Technol Res* 2014;20:459-67.
17. Suwannakul S, Chaibenjawong P. Antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* Linn (Licorice) root extract against *Porphyromonas gingivalis* and its inhibitory effects on cysteine proteases and biofilms. *J Dent Indones* 2017;24(3):85-92.
18. Hwang E, Park SY, Yin CS, Kim HT, Kim YM, Yi TH. Antiaging effects of the mixture of *Panax ginseng* and *Crataegus pinnatifida* in human dermal fibroblasts and healthy human skin. *J Ginseng Res* 2017;41(1):69-77.
19. Ahmet CT, Metin C. Antioxidants and periodontal disease. [cited 2019 Oct 14] Available from: <https://www.intechopen.com/online-first/antioxidants-and-periodontal-diseases#B61>
20. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple ILC. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol* 2004;31(7):515-21.
21. Mathur A, Mathur L, Manohar B, Mathur H, Shankarapillai R, Shetty N, *et al.* Antioxidant therapy as monotherapy or as an adjunct to treatment of periodontal diseases. *J Indian Soc Periodontol* 2013;17(1):21-4.
22. Lee JH, Shim JS, Lee JS, Kim MK, Chung MS, Kim KH. Pectin-like acidic polysaccharide from *Panax ginseng* with selective antiadhesive activity against pathogenic bacteria. *Carbohydr Res* 2006;341(9):1154-63.
23. Jeddy N, Ravi S, Radhika T, Sai Lakshmi LJ. Comparison of the efficacy of herbal mouth rinse with commercially available mouth rinses: A clinical trial. *J Oral Maxillofac Pathol* 2018;22(3):332-4.
24. Subramaniam S, Abirami T, Prakash PSG, Victor DJ, Devi RT. Comparison of clinical effectiveness of red ginseng mouthwash with chlorhexidine in generalized chronic periodontitis patients. *J Pharm Sci & Res* 2019;11(7):2570-3.

25. ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Geneva:ISO;2009. [cited2022April14] Available from: <https://www.iso.org/standard/36406.html>
26. Zambon JJ, Ciancio SG, Mather ML, Charles CH. The effect of an antimicrobial mouthrinse on early healing of gingival flap surgery wounds. *J Periodontol* 1989;60(1)31-4.
27. Verma UP, Gupta A, Yadav RK, Tiwari R, Sharma R, Balapure AK. Cytotoxicity of chlorhexidine and neem extract on cultured human gingival fibroblasts through fluorescence-activated cell sorting analysis : An *in-vitro* study. *Eur J Dent* 2018;12(03):344-9.
28. Babich H, Wurzbarger BJ, Rubin YL, Sinensky MC, Blau L. An *in vitro* study on the cytotoxicity of chlorhexidine digluconate to human gingival cells. *Cell Biol Toxicol* 1995;11(2):79-88.
29. Chen Y, McMillan-Ward E, Kong J, Israels SJ, Gibson SB. Oxidative stress induces autophagic cell death independent of apoptosis in transformed and cancer cells. *Cell Death Differ* 2008;15(1):171-82.
30. Suzuki M, Bandoski C, Bartlett JD. Fluoride induces oxidative damage and SIRT1/autophagy through ROS-mediated JNK signaling. *Free Radic Biol Med* 2015;89:369-78.
31. Modarresi M, Farahpour MR, Baradaran B. Topical application of Mentha piperita essential oil accelerates wound healing in infected mice model. *Inflammopharmacology* 2019;27(3):531-7.
32. Mystkowska J, Car H, Dabrowski JR, Romanowska J, Klekotka M, Milewska AJ. Artificial mucin-based saliva preparations - Physicochemical and tribological Properties. *Oral Health Prev Dent* 2018;16(2):183-93.
33. Klekotka M, Dabrowski JR, Recko K. Fretting and fretting corrosion processes of Ti6Al4V implant alloy in simulated oral cavity environment. *Materials* 2020;13(7):1561.
34. Popovich DG, Yeo SY, Zhang W. Ginseng (Panax quinquefolius) and Licorice (Glycyrrhiza uralensis) root extract combinations increase hepatocarcinoma cell (Hep-G2) viability. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011:408273.
35. Sidhu P, Shankargouda S, Rath A, Hesarghatta Ramamurthy P, Fernandes B, Kumar Singh A. Therapeutic benefits of liquorice in dentistry. *J Ayurveda Integr Med* 2020;11(1):82-8.
36. Nazari S, Rameshrad M, Hosseinzadeh H. Toxicological effects of Glycyrrhiza glabra (Licorice): A review. *Phytother Res* 2017;31(11):1635-50.

Evaluation of Dens Evaginatus by CBCT and Exome sequencing in Thai Population

Suchaya Nimkulrat¹, Anchana Panichuttra¹, Chootima Ratisoontorn¹, Thantrira Porntaveetus²

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

²Center of Excellence in Genomics and Precision Dentistry, Department of Physiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Abstract

Dens evaginatus (DE) is a dental developmental anomaly with reports of variability in the frequency of the trait between racial groups and familial occurrences. This study aims to investigate characteristics of dens evaginatus and associated genomic variants. DNA samples of four patients with dens evaginatus and their fathers and mothers were taken and whole exome sequencing was performed. For radiographic analysis, ten teeth with dens evaginatus from six patients were examined and received CBCT. Depending on the clinical diagnosis of pulpal and periapical status, all teeth received either prophylaxis treatment or endodontic treatment. Participants were categorized as the exposed pulp group or the non-exposed pulp group. 3D images were evaluated with one volume viewer. Factors including main pulp canal extension, dens evaginatus-located cusp steepness, size, shape, location and pulp extension of dens evaginatus cusp were tested for association with clinical pulpal exposure using Pearson's chi-square or Fisher's Exact Test. From the results, genes of genetic interest to 18 genes were narrowed down but a definite pathogenic variant was not identified in all the participants. From the CBCT investigation, there was a significantly higher chance of pulpal exposure in a tooth with dens evaginatus with a ratio of less than 0.45 and degree of buccal cusp inclination of less than 33°. Size, shape and location of dens evaginatus cusp are not statistically related to pulpal exposure. In conclusion, factors influencing clinical pulpal exposure in a tooth with DE were main pulp canal extension and dens evaginatus-located cusp steepness ($p < 0.05$).

Keywords: Dens evaginatus, Exome sequencing, Genetic inheritance, Pulp exposure

Received Date: Apr 19, 2022

Revised Date: May 19, 2022

Accepted Date: Jul 4, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.51

Correspondence to :

Thantrira Porntaveetus, Center of Excellence in Genomics and Precision Dentistry, Department of Physiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University. 34 Henri Dunant Road, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand. Tel. 0-2218-8690 Email: thantrira.p@chula.ac.th

Introduction

Dens evaginatus (DE) is a dental developmental anomaly exhibited by an extra cusp or tubercle on the occlusal surface of teeth. It is commonly found on the premolars, but sometimes on the molars and incisors. The DE contains enamel, dentinal core, and usually pulpal

tissue. According to the Oehler's classification in 1967, 90% of teeth with DE had pulpal extension within the extra cusp.¹ Due to its protuberance, DE is susceptible to wear or fracture due to trauma. Once the extending pulp is exposed to the oral environment, the oral bacteria

may evade the pulp cavity causing infection. Many caries-free premolars have been reported with periapical pathology due to a fracture of DE.

The observation of DE is variable among racial groups. It is predominantly observed in the Asian population with an incidence ranging from 0.5 to 4.3%.² According to the previous study examining 5,696 patients at Chiang Mai University, an incidence of 1.01% was reported in the Thai population.³ Previous literatures have suggested that DE is a multifactorial etiology, resulted from both genetic and environmental factors.^{4,5} The finding of DE inherited in many members of the same family suggests genetic influence.⁶ To date, available data on genetic variants associated with DE is still limited.

Several classifications of DE have been proposed, based on anatomical shape, location, or pulpal content.² Lau *et al.*, 1955 classified the tubercle or DE into four anatomical shapes: smooth, grooved, terraced, and ridged. Merrill *et al.*, 1964 categorized DE into a drop, nipple, pointed cone, or cylindrical cone.⁷ Oehlers *et al.*, 1967 classified DE by the histologic appearance of pulp horn inside the tubercle, comprising wide, narrow, or constricted pulp horn, isolated pulp horn remnant, and no pulp horn.¹ Reichart and Tontiniron, 1975 divided DE by the location into two types: the tubercle arising from occlusal inclined plane and the tubercle located in the center of the occlusal surface. Small invagination or pinpoint cavity type was also observed that could be the result of DE attrition or fracture, leading to exposure of dentin and dental pulp.³ However, none of these classifications correlates clinical findings with radiographic features. They are not applicable for clinical management and widely used by dentists. A lack of understanding of the correlation between clinical and radiographic features of DE results in improper diagnosis, prognosis, and management of DE.

Therefore, the aim of this study was to investigate the characteristics of DE and DE-associated genomic variants and investigate the correlation between clinical appearances, CBCT images, and pulpal extension of DE.

Materials and Methods

Participants

This study was approved by the Ethics Committee, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand (HREC-DCU 2019-059). For genetic investigation, four families, each consisting of a member with a dental record with DE, their father and mother, were recruited for examination and blood/saliva sampling. After the dental examination, we realized that the participants had received either prophylaxis treatment or endodontic treatment on their DE teeth and were unable to participate in the CBCT investigation. Therefore, a new group of participants were recruited for the CBCT investigation with the following inclusion criteria: 1. diagnosis of DE 2. DE tooth has not received any dental treatment. Six participants, comprising two males and four females at 10-42 years of age with 10 teeth with DE (four participants had two teeth with DE, two participants had one tooth with DE) were recruited. Informed consent was obtained from each participant.

Genetic investigation

Blood samples were submitted by each enrolled patient, the patient's father and mother. 3 mL of blood was collected in a blood collection tube with EDTA by the technician. For patients who did not agree to having their blood drawn, they were asked to collect 2 mL of saliva in a DNA collection kit (Oragene DNA®). DNA extraction from peripheral blood leukocytes was performed by QIAGEN while DNA extraction from saliva was performed by DNA genotek. Extracted DNA was sent to the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University for next-generation sequencing (NGS). DNA was captured on the TruSeqExome Enrichment Kit (Illumina) and subsequently sequenced on the HiSeq2000 Instrument. The raw data per exome was mapped to the human reference genome hg19 using the Genome browser. Mutation analysis was performed. The DNA of the probands and their parents was Sanger sequenced to confirm the mutation. WES analysis was performed at Macrogen, Inc. (Seoul, Korea) using Variant-Studio™ version 3.0.12 (Illumina, Inc., USA).

CBCT investigation

Six patients received CBCT at the Department of Radiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University. 3D images were obtained with Morita's 3D Accuitomo 170 with 80 kVp, 5mA, exposure time 17.5 seconds, limited field of view of 40x40 mm, and voxel size 0.080mm. Interpretation and evaluation of scans was performed by a third-year endodontic resident and a 20-year-experienced endodontist. Reliability and interobserver agreement were evaluated by Cohen's kappa coefficient for categorical variables and demonstrated a kappa value of 1.00, indicating almost perfect agreement. Intraclass correlation coefficients (ICC) were used for evaluation of continuous variables and demonstrated an ICC value of 0.993, indicating excellent agreement. Sectional images of coronal and sagittal views were reviewed with i-Dexel One Volume Viewer software. The coronal plane line was set parallelly to the tooth long axis and perpendicularly to the occlusal surface. One sectional image through the midline of each

DE was generated from the sagittal view and another from the coronal view for measurement.

1. Dimensions of DE consist of DE base width and DE cusp height (Fig. 1). The DE base width was the horizontal distance between one side of the base to another side in coronal view. DE cusp height was the vertical distance between the tip and base of DE cusp in coronal view

2. Main pulp canal extension ratio is calculated by the coronal pulp height divided by the crown height. Crown height was the distance between the buccal cusp tip and cemento-enamel junction. Coronal pulp height was the distance between the pulpal horn and cemento-enamel junction (Fig. 2).

3. Steepness of inclined plane or degree of cuspal inclination measured as the angle between the inclined plane line drawn from buccal or lingual cusp tip to central groove and the imaginary line perpendicularly to the long axis of the teeth (Fig. 3)



Figure 1 Dimension measurement
red line; base width,
white line; height

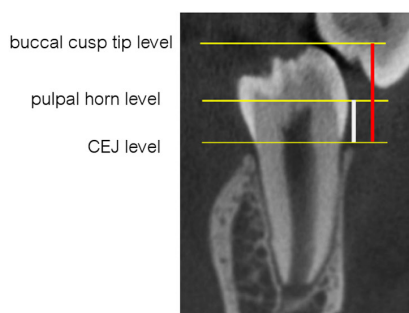


Figure 2 Main pulp canal extension
measurement
red line; crown height,
white line; coronal pulp height



Figure 3 Degree of cuspal inclination

This study classified DE according to shape and location (modified from Reichart and Tantiniran, 1975³) and pulp extension (modified from Oehlers et al. 1967¹)

Classification of DE shape and location

Type I: cone-like, cone-shaped cusp (flat base with tapering, pointed apex) with base width at least 2x2 mm and apex-base ratio of 0.5 or lesser

- 1a) located at inclined plane
- 1b) located at central groove

Type II: tubercle, dome-shaped cusp with smooth surface

- 2a) located at inclined plane
- 2b) located at central groove

Type III: pit, a pinpoint hole that can be detected by explorer no.5, assumed to be the result from a fracture of the DE cusp.

- 3a) located at inclined plane
- 3b) located at central groove

Classification of DE pulp extension (Fig. 4)

For each tooth, sagittal and coronal views of the CBCT images were evaluated and classified as the following:

Class 1: distinct pulp extension to the DEJ at the level of base of DE cusp (occlusal table) in at least 1 radiographic view

Class 2: pulp extension in the dentin (but not reaching DEJ) in at least 1 radiographic view

Class 3: no pulp extension from main pulp canal

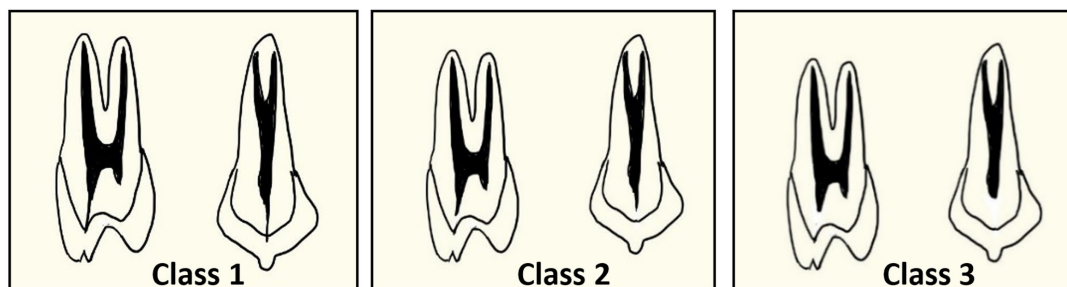


Figure 4 Schematic representation of DE pulp extension

If sections from the sagittal and coronal views were indecisive, the axial view at the level of DEJ was evaluated to determine whether pulpal content was present (classified as class1) or absent (classified as class 2).

Treatment

Teeth diagnosed with pulp necrosis received endodontic treatment while teeth with normal pulp received prophylaxis treatment. 2% Mepivacaine with epinephrine 1:100,000 1.0mL was injected. Rubber dam was applied. The DE cusp was removed by dental burs, followed by preparation of a class I 1.5mm-depth cavity. If the pulpal exposure was marked, the dental pulp was capped with Dycal, subbased with glass ionomer cement (GIC) and restored with resin composite. If the pulp was not exposed, the cavity was lined with GIC and restored with resin composite. Occlusion was checked.

Statistical analysis

Factors including main pulp canal extension, steepness of DE-located inclined plane, size, location and shape of DE and classification of the DE pulpal extension were evaluated. Quantitative variables (pulpal extension, steepness of inclined plane, size) were converted to dichotomous variables by splitting the sample at their means. Associations between each factor and pulpal exposure were evaluated by the Pearson chi-square test or the Fisher's Exact Test. The level of statistical significance

was prespecified at $P < 0.05$. Statistical analyses were performed by SPSS Version 22 software.

Results

Genetic analysis

Four probands (two males and two females) were confirmed with DE by clinical examination. The anomaly was observed in both mother and daughter of two families. Mutation analysis and whole exome sequencing was performed. All variants passed the quality filters including (1) quality score of at least 20 (2) read depth of at least 10 (3) location in the coding regions (4) less than 1% minor allele frequency in the database of 1,000 Genomes Project Consortium, SNPs, Exome Variant Server, and our in-house database of 1,800 Thai exomes. We were able to narrow down the genes of genetic interest to 18 genes (ABCA5, ADAT3, BCORL1, DDR2, ERCC2, HTT, KAT6A, KMT2A, KMT2C, LIG4, MIA3, PLEC, PTCH1, RAI1, TGIF1, TRIP11, WRAP53 and ZIC2). However, a definite pathogenic variant was not identified in all the participants.

CBCT analysis

10 teeth with DE from six participants (four participants had two teeth with DE and two participants had one tooth with DE) were analyzed. There were two teeth classified as type 1 (clinical appearance of type 1 DE tooth shown in Fig. 5A), six teeth classified as type 2

(clinical appearance of type 2 DE tooth shown in Fig. 6A,7A) and two teeth classified as type 3 (clinical appearance of type3 DE tooth shown in Fig. 8A). For DE pulp extension, there were two teeth classified as class 1 (3D images shown in Fig. 5C-D), four teeth classified as class 2 (3D images shown in Fig. 7C, 7D) and four teeth with class 3 (3D images shown in Fig. 6C-D, 8C-D). Patient tooth number, sex, age, location and shape of DE, main pulp canal extension, and measurement values were shown in Appendix Tables 1 and 2. Mean values of continuous variables are 0.45 for main pulp canal extension ratio, 33° for degree of buccal

cuspal inclination (steepness), 26° for degree of lingual cuspal inclination, and 2.2 for size of DE cuspal base width. Quantitative numbers were converted to dichotomous variables and listed in the first column of Table 1. Data of factors tested for association with pulpal exposure and statistical results are shown in Table 1. There was a significantly higher chance of pulpal exposure in a DE tooth with a ratio of less than 0.45 and the degree of buccal cuspal inclination of less than 33°. Size, shape and location of DE cuspal are not statistically related to pulpal exposure.

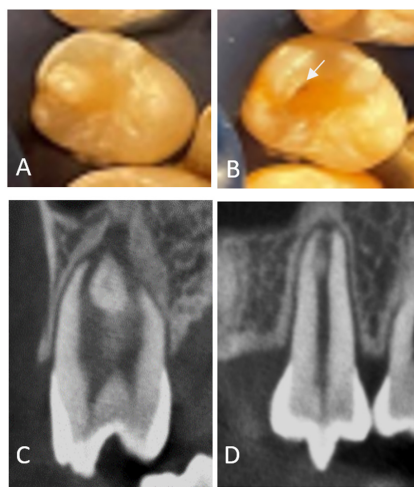


Figure 5 Clinical appearance of patient no.5, tooth 15: Type 1a
A – before treatment, B – after cavity preparation
(Arrow indicates pulpal exposure)
CBCT section, C – sagittal view, D - coronal view. Class 1

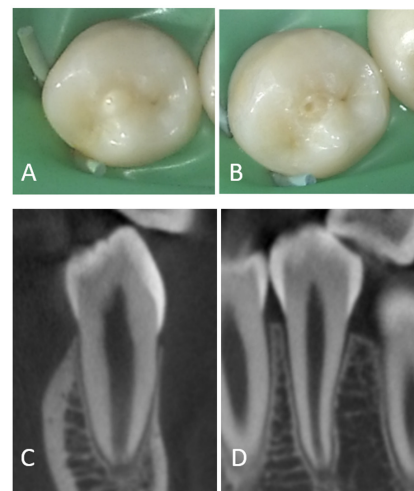


Figure 6 Clinical appearance of patient no.3, tooth 34: Type 2b
A – before treatment, B – after cavity preparation
CBCT section, C – sagittal view, D - coronal view. Class3

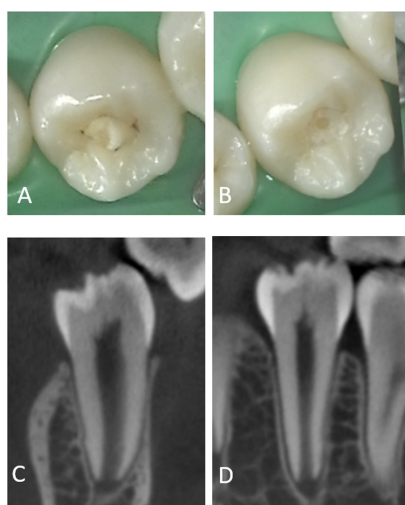


Figure 7 Clinical appearance of patient no.3, tooth 35: Type 2b
A – before treatment, B – after cavity preparation
CBCT section, C – sagittal view, D - coronal view. Class2

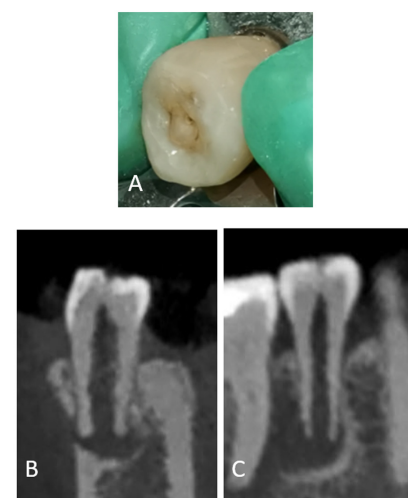


Figure 8 Clinical appearance of patient no.4, tooth 45: Type 3a
A – before treatment, CBCT section, B – sagittal view,
C - coronal view. Class 3

Table 1 Factors tested for association with pulpal exposure

Factors	Total	Pulp exposure	Not exposed	p-value
Ratio, n (%)	10			0.033 ^a
<0.45	6 (60)	0 (0)	6 (100)	
≥0.45	4 (40)	3 (75)	1 (25)	
Cuspal inclination (B)	10			0.033 ^a
<33°	4 (40)	3 (75)	1 (25)	
≥33°	6 (60)	0 (0)	6 (100)	
Cuspal inclination (Li)	10			1.000 ^a
<26°	4 (40)	1 (25)	3 (75)	
≥26°	6 (60)	2 (33.3)	4 (66.7)	
DE base width	10			1.000 ^a
<2.2	8 (80)	2 (25)	6 (75)	
≥2.2	2 (20)	1 (50)	1 (50)	
Shape	10			0.240 ^b
cone-like	2 (20)	1 (50)	1 (50)	
tubercle	4 (40)	0 (0)	4 (100)	
pit	4 (40)	2 (50)	2 (50)	
Location	10			1.000 ^a
inclined plane	6 (60)	2 (33.3)	4 (66.7)	
central groove	4 (40)	1 (25)	3 (75)	
CBCT classification of DE pulp extension	10			0.197 ^b
I	3 (30)	2 (75)	1 (25)	
II	4 (40)	1(25)	3 (75)	
III	3 (30)	0 (0)	3 (100)	

* $P < 0.05$

^a Fisher's exact test

^b Pearson chi-square

Discussions

Genetic inheritance

Previous literature had reported DE in many members of the same family, suggesting possible genetic inheritance of the anomaly.⁶⁻⁸ In the present study, the anomaly was observed in both the mother and the daughter of two families. Blood or saliva samples taken from two generations in each family were subjected for exome sequencing. Genetic analysis was performed according to the gene list associated with abnormality of the dentition (HP:0000164) The genes of genetic interest were able to be narrowed down to 18 genes. However,

a definite pathogenic variant was not identified. Of note, the limitations of this study are 1) There is a limited number of participants with definite phenotypes of DE as the DE is usually worn down before the participants are seen by a dentist., 2). There is a minimal number of affected family members that are available for genetic tests., 3) The causative variant of DE has never been reported, leaving the genetic identification difficult. The causative gene of DE could be a new gene and to determine a new gene as the cause of disease requires many affected and unaffected people within the same family. This would

enable genotype-phenotype segregation to be efficient., 4) Exome sequencing used in this study obtains the data only from the exons coding protein. There is a possibility that the causative variant could lie in the non-coding region of the gene or it can be large gene deletion that requires whole genome sequencing or long-read sequencing, respectively. Based on the above arguments, more samples with definite tooth phenotypes are required that would lead to more possibility to determine the genetic cause of DE. In addition, it was observed that one participant in this study had developmental anomalies comprising supernumerary teeth and brachydactyly. Again, the pathogenic variant was not identified based on the above stated reasons.

CBCT evaluation

Though DE can be easily detected by clinical examination, pulp extension into a DE cusp is not easily gauged. Periapical radiographs had been used in previous literature to confirm pulp horn extension.^{9,10} However, the anomaly is difficult to examine by intraoral radiograph due to overlapping of the lingual cusps. The extension of the pulp might be inconclusive. CBCT enables three-dimensional investigation of DE and its pulpal content. The data gained from evaluating CBCT sections can be used to identify correlation between pulpal extension and clinical pulpal exposure and confirm the preciseness of periapical radiographs for DE evaluation.

Previous literature had reported cases with pulpal infection resulting from traumatic occlusion and fracture of DE.^{6,11-14,18,19} To prevent apical periodontitis, prophylaxis treatment by removal of tubercle followed by cavity preparation and filling with resin composite under rubber dam application was suggested.¹⁴⁻¹⁸ Pulpal depth of 1.5 mm from the central groove was required to resist occlusal forces and prevent composite filling from fracture.²⁰

The present study examined radiographic morphology of DE teeth and assessed correlations between CBCT findings and clinical pulpal exposure. A field of view

of 40x40 mm and the smallest voxel size of 0.080 mm were selected to obtain good quality 3D images for pulp extension evaluation. In this study, the ratio between coronal pulp height and crown height was used to evaluate the main pulp extension of each tooth. From the results, if the coronal pulp height extends above half of the crown height (ratio > 0.5), there is a high chance of pulpal exposure after tubercle fracture or after prophylaxis cavity preparation. Main pulp extension is related to the degree of development of the tooth since during maturation secondary dentin is continuously deposited causing narrowing of the dental pulp cavity. The age of the patient at the time of tubercle fracture or receiving prophylaxis cavity preparation is one of the factors influencing pulpal exposure. Therefore, if DE is detected by the dentist while the main pulp canal extension ratio is greater than 0.5, other prophylaxis treatment such as grinding of the tubercle to encourage the deposition of secondary dentin¹ or resin sealant over the tubercle²¹ could be alternative treatment options to avoid pulpal exposure.

Steepness of buccal cusp is also associated with pulpal exposure, especially when the tubercle is located at an inclined plane. The degree of cuspal inclination represents the steepness of an inclined plane. The results of this study show that pulpal exposure occurs in the teeth that have the degree of buccal cuspal inclination at 33° or less. The higher the degree, the lower risk of pulpal exposure is due to the longer distance between pulpal horn and external tooth surface.

DE located at the buccal inclined plane of the lingual cusp is reported as a variation.^{2,7} In this study, DE cusp of all recruited participants were found at the lingual inclined plane of the buccal cusp or at the central groove. Hence, the statistical relationship between lingual cusp steepness and clinical pulp exposure was not established.

Fracture of tubercle, which leads to pulpal exposure, is related with interfered occlusion of DE cusp with the opposing tooth upon the cusp-like elevation.^{2,9,10,12}

On the other hand, location of the tubercle is unlikely related to pulpal exposure. Alignment and axis of the tooth define whether the tubercle is in contact with the opposing tooth, causing traumatic occlusion during function followed by fracture or wear of the tubercle or not. In one patient who had DE of teeth 35 (mandibular left second premolar) and 45 (mandibular right second premolar), DE were observed at the same location and both appeared in the form of a circular-based flat surface. Tooth 45 had a deep pit and was diagnosed with pulp necrosis while tooth 35 had a smooth occlusal surface with a dentinal core. From radiographic findings, tooth 45 had an immature root apex with wide open apical foramen. Therefore, pulp necrosis might have occurred while the root was incompletely formed. It can be assumed that the cause of the pulpal disease for tooth 45 was due to a sudden fracture of the tubercle, forming a deep pit that enhanced bacterial accumulation followed by tooth decalcification and pulpal inflammation. On the contrary, tooth 35 had normal pulp tissue with mature root apex. Tubercle was assumed to be grinded and worn, forming a flat surface with dentin deposition.

The relationship between the original shape of DE and pulpal exposure has not been reported in previous literature. From the results, the original shape is not directly associated with pulpal exposure. However, if the tubercle is fractured and DE appears in the form of a pit, the tooth is more prone to caries leading to pulpal disease since the pit can enhance bacterial accumulation and tooth decalcification.

In another patient with DE of teeth 14 (maxillary right first premolar) and 15 (maxillary right second premolar), after receiving cavity preparation for prophylaxis treatment, tooth 14 showed smooth dentinal core while tooth 15 showed pinpoint pulpal exposure. From radiographic evaluation, the main pulp canal extension ratio of tooth 14 was lower than that of tooth 15 (0.44 and 0.52 respectively), and the degree of the buccal cusp inclination of tooth

14 is higher than tooth 15 (49° and 30° respectively). In addition, in the patient with DE of teeth 34 (mandibular left first premolar) and 35 (mandibular left second premolar), tooth 34 with normal pulp had a lower main pulp canal extension ratio than tooth 35 with necrotic pulp (0.43 and 0.57 respectively). Furthermore, the degree of the buccal cusp inclination of tooth 34 was higher than tooth 35 (32° and 20° respectively). These results suggested that main pulp canal extension ratio and degree of buccal cusp inclination are influencing factors for pulpal exposure of a fractured DE.

The examination of DE using CBCT in this study enables three-dimensional investigation of the radiographic appearance of DE and its pulpal content. The ratio of main pulp canal extension has been proven to be associated with clinical pulpal exposure after DE fracture or prophylaxis cavity preparation. The CBCT in clinical practice is recommended for treatment of dens evaginatus using regenerative endodontics procedures.²² Periapical radiographic films can be used to estimate the main pulp canal extension, assisting clinicians to determine the best treatment for each patient.

Conclusion

Factors influencing clinical pulpal exposure in the teeth with DE are the main pulp canal extension and DE-located cusp steepness. Radiographs can be used to estimate chances of pulp exposure if prophylaxis cavity preparation is required. More samples with definite tooth phenotypes of DE are required to precisely determine the causative genetic variants of DE.

Acknowledgements

This study was supported by the Health Systems Research Institute (65-039), National Research Council of Thailand (NRCT) (N42A650229), Ratchadapiseksompotch Endowment Fund, Chulalongkorn University (RCU_H_64_002_32).

References

1. Oehlers FA, Lee KW, Lee EC. Dens evaginatus (evaginated odontome). Its structure and responses to external stimuli. *Dent Pract Dent Rec* 1967;17(7):239-44.
2. Levitan ME, Himel VT. Dens evaginatus: literature review, pathophysiology, and comprehensive treatment regimen. *J Endod* 2006;32(1):1-9.
3. Reichart P, Tantiran D. Dens evaginatus in the Thai. An evaluation of fifty-one cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975;39(4):615-21.
4. Hattab FN, Yassin OM, al-Nimri KS. Talon cusp in permanent dentition associated with other dental anomalies: review of literature and reports of seven cases. *ASDC J Dent Child* 1996;63(5):368-76.
5. Davis PJ, Brook AH. The presentation of talon cusp: diagnosis, clinical features, associations and possible aetiology. *Br Dent J* 1986;160(3):84-8.
6. Stewart RE, Dixon GH, Graber RB. Dens evaginatus (tuberculated cusps): genetic and treatment considerations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978;46(6):831-6.
7. Merrill RG. Occlusal Anomalous Tubercles on Premolars of Alaskan Eskimos and Indians. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1964;17:484-96.
8. Curzon ME, Curzon JA, Poyton HG. Evaginated odontomes in the Keewatin Eskimo. *Br Dent J* 1970;129(7):324-8.
9. Goto T, Kawahara K, Kondo T, Imai K, Kishi K, Fujiki Y. Clinical and radiographic study of dens evaginatus. *Dentomaxillofac Radiol* 1979;8(2):78-83.
10. Chen RS. Conservative management of dens evaginatus. *J Endod* 1984;10(6):253-7.
11. Echeverri EA, Wang MM, Chavaria C, Taylor DL. Multiple dens evaginatus: diagnosis, management, and complications: case report. *Pediatr Dent* 1994;16(4):314-7.
12. Priddy WL, Carter HG, Auzins J. Dens evaginatus--an anomaly of clinical significance. *J Endod* 1976;2(2):51-2.
13. Stecker S, DiAngelis AJ. Dens evaginatus: a diagnostic and treatment challenge. *J Am Dent Assoc* 2002;133(2):190-3.
14. Hill FJ, Bellis WJ. Dens evaginatus and its management. *Br Dent J* 1984;156(11):400-2.
15. Sim TP. Management of dens evaginatus: evaluation of two prophylactic treatment methods. *Endod Dent Traumatol* 1996;12(3):137-40.
16. Lim ST, Yong SL, Chen ML. A review of the prophylactic treatment of dens evaginatus. *J Int Assoc Dent Child* 1982;13(1):21-5.
17. Yong SL. Prophylactic treatment of dens evaginatus. *ASDC J Dent Child* 1974;41(4):289-92.
18. Chen JW, Huang GT, Bakland LK. Dens evaginatus Current treatment options. *JADA* 2020;151(5):358-367
19. Wang FM, Chugal NM, Glickman GN, Gutmann JL. Contemporary endodontic treatment choices for adult patients with dens evaginatus and apical periodontitis: a case report with a 2-year follow-up. *Gen Dent*. 2018 Nov-Dec;66(6):61-64
20. Ritter AV, Boushell LW, Walter R. Sturdevant's art & science of operative dentistry. Missouri; 2017. P.224-226
21. Bazan MT, Dawson LR. Protection of dens evaginatus with pit and fissure sealant. *ASDC J Dent Child* 1983;50(5):361-3.
22. American Association of Endodontists. Clinical Considerations for a Regenerative Procedure; 2021 May 18.

เปรียบเทียบฟองอากาศของเรซินซีเมนต์ชนิดต่างๆ และที่ความหนาฟิล์มที่แตกต่างกันภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

The Comparison of Void in Different Types and Film Thickness of Resin Cements under Scanning Electron Microscope

นฤมล ศรีประเสริฐ¹, อิศราวัลย์ บุญศิริ¹, วสันต์ วัฒนศักดิ์¹

Naluemol Sriprsert¹, Issarawan Boonsiri¹, Wasan Vatanasak¹

¹สาขาวิชาทันตกรรมประดิษฐ์ วิทยาลัยทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต จ.ปทุมธานี ประเทศไทย

¹Prosthodontics, College of dental medicine, Rangsit University, Pathum Thani, Thailand

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบจำนวนฟองอากาศที่เกิดขึ้นในเรซินซีเมนต์ชนิดต่างๆ ที่ความหนาต่างๆ กัน ในกรณีที่ใช้เรซินซีเมนต์ยึดติดด้วยคอมโพสิตเสริมเส้นใยในคลองรากฟันที่รักษารากฟัน โดยเลือกใช้เรซินซีเมนต์ 3 ชนิดได้แก่ แมกเซมอีไลต์ (Maxcem Elite[®], Kerr, USA) รีเลย์เอ็กซ์ยูนิเซม (Rely X Unicem[®], 3M ESPE, USA) และซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี (Superbond C&B[®], Sun Medical, Japan) ผสมตามคำแนะนำของผู้ผลิต นำไปหล่อในแบบพิมพ์ที่ความหนา 200 และ 400 ไมโครเมตร เมื่อขึ้นงานเกิดการโพลีเมอไรเซชันเต็มที่ นำมาตัดด้วยไดมอนด์ดิส (Diamond Disc) ทำความสะอาดด้วยอัลตราโซนิก นำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราดกำลังขยาย 350X พบว่า เรซินซีเมนต์ชนิดแมกเซมอีไลต์ รีเลย์เอ็กซ์ยูนิเซม และซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี เกิดจำนวนฟองอากาศที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยพบจำนวนฟองอากาศมากที่สุดในกลุ่ม แมกเซมอีไลต์ รองลงมาคือรีเลย์เอ็กซ์ยูนิเซม และซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บีตามลำดับ แมกเซมอีไลต์ และรีเลย์เอ็กซ์ยูนิเซม มีฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมาก ส่วนซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บีนั้นพบฟองอากาศขนาดใหญ่และเชื่อมกันเป็นพู ความหนาฟิล์มของเรซินซีเมนต์ที่แตกต่างกันได้มีผลต่อจำนวนฟองอากาศที่เกิดขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ สรุปได้ว่าชนิดของเรซินซีเมนต์แต่ละชนิดเกิดจำนวนฟองอากาศที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ชนิดโททอลเอทซ์ที่ปราศจากวัสดุอัดแทรก มีจำนวนฟองอากาศน้อยแต่มีขนาดใหญ่และเชื่อมต่อกันเป็นพู ชนิดเซลฟ์เอทซ์และเซลฟ์แอตตีฟมีส่วนผสมของ วัสดุอัดแทรก เกิดฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากและมีระยะห่างมากกว่า ส่วนความหนาฟิล์มที่ต่างกันของเรซินซีเมนต์แต่ละชนิดไม่มีผลต่อจำนวนฟองอากาศอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ: ความหนาฟิล์ม, ฟองอากาศ, เรซินซีเมนต์

Abstract

This research aimed to compare the amount of voids in different resin cements and different film thicknesses in endodontically treated tooth restored with fiber reinforced prefabricated post. The research studied the voids in different types of resin cements, which include Maxcem Elite (Kerr, USA), Rely X Unicem (3M ESPE, USA) and Superbond C&B (Sun Medical, Japan) at 200 and 400 micrometer film thicknesses. After the sample were complete polymerization, cut with the diamond disc, cleaned by ultrasonic and examined under scanning electron microscope at 350X magnification. Maxcem Elite, RelyX Unicem, and Superbond C&B resin cement had significant difference in the amount of void formation ($p < 0.05$). The resin cement with the most amount of void was Maxcem Elite, followed by RelyX Unicem, and Superbond C&B respectively. Maxcem Elite and RelyX Unicem had large amount of small size voids. Superbond C&B usually had large, interconnected voids. However there was no significant difference in

the amount of voids under different film thicknesses of the resin cements. Different types of resin cements had different amount of void formation significant difference; the amount of voids in different film thicknesses of the resin cements was no significant difference; After the sample were complete polymerization. Unfilled resin, total etch resin cement had less amount of void formation, yet the voids had multiple lobules and were interconnected. Self-etch and self-adhesive resin cements with fillers had smaller voids with greater distance in between.

Keywords: Film thickness, voids, resin cement

Received Date: Mar 14, 2022

Revised Date: Apr 7, 2022

Accepted Date: Jul 4, 2022

doi: 10.14456/jdat.2022.52

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ :

นฤมล ศรีประเสริฐ อาจารย์รังสิตประยูรศักดิ์ วิทยาลัยทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต 52/347 หมู่บ้านเมืองเอก ถนนเอกประจิม ตำบลหลักหก อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี 12000 ประเทศไทย โทรศัพท์ 098-9552526 อีเมล nalumol.s@rsu.ac.th

Correspondence to :

Naluemol Sriprsert, Faculty of Dental medicine Rangsit Universit 52/347 Phahonyothin Rd, Lak Hok, Mueang Pathum Thani District, Pathum Thani 10200 Thailand. Tel: 098-955-2526 Email: nalumol.s@rsu.ac.th

บทนำ

ปัจจุบันมีการใช้เรซินซีเมนต์ในงานทันตกรรมอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีข้อดีหลายประการ อาทิ เช่น คุณสมบัติการต้านแรงอัดสูง (High compressive strength) การละลายตัวต่ำ (Low solubility) มีเมทริกซ์โพลีเมอร์ซึ่งสามารถปิดผนึกช่องว่างระหว่างชั้นงานบูรณะและผิวเนื้อฟัน (marginal seal) และมีคุณสมบัติด้านความสวยงามที่ดี จากคุณสมบัติที่กล่าวมาข้างต้น เรซินซีเมนต์จึงเป็นที่นิยมในการยึดครอบฟัน สะพานฟัน ตลอดจนเดือยฟันชนิดต่าง ๆ¹⁻⁶ การแบ่งชนิดของเรซินซีเมนต์ตามการเตรียมพื้นผิวฟันเพื่อให้เกิดการยึดติด (bonding characteristics) สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่มดังนี้ คือ ระบบที่หนึ่ง โททอลเอทช์หรือระบบทาแล้วล้างออก (total etch or etch and rinse, 5th generation) อาศัยระบบการยึดติดเนื้อฟัน (dentine adhesive system) ร่วมกับเรซินซีเมนต์ที่มีองค์ประกอบของเมทาไครเลตเป็นหลัก (methacrylate based resin cement) ในการยึดด้วยเรซินซีเมนต์ชนิดโททอลเอทช์นี้ จำเป็นต้องใช้กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) ทาบริเวณเคลือบฟัน (enamel) และเนื้อฟัน (dentin) เพื่อกำจัดชั้นเสมียร์ (smear layer) และส่วนที่เป็นแร่ธาตุ (demineralized) ในเนื้อฟัน เปิดท่อเนื้อฟัน (dental tubules) และเปิดช่องว่างในเส้นใยคอลลาเจน (collagen fibers) ระบบการยึดติดนี้เป็นวิธีการยึดแบบเปียก (wet bonding technique) เพื่อป้องกันการยุบตัว (Collapse) ของเครือข่ายเส้นใยคอลลาเจน เรซินซีเมนต์กลุ่มนี้มีความแข็งแรงพันธะสูง (Bond strength)

และชั้นไฮบริด (Hybrid layer) ที่เกิดขึ้นจากการแทรกซึมของเรซินลงไปในเมทริกซ์-คอลลาเจน (Collagen matrix) ช่วยลดการรั่วซึมตามขอบของชิ้นงานบูรณะในระดับไมโคร (Microleakage) อย่างไรก็ตาม ระบบโททอลเอทช์นี้มีขั้นตอนการใช้งานที่ยุ่งยาก ในกรณีที่น้ำเหลือมากเกินไปในช่องว่างระหว่าง เส้นใยคอลลาเจน ทำให้เกิดการเจือจางความเข้มข้นของ โมโนเมอร์ในระบบยึดติด (Adhesive monomer) ไปยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาโพลีเมไรเซชันที่สมบูรณ์ (Optimum polymerization) และส่งผลให้เกิดการเสื่อมของเรซินซีเมนต์บริเวณผิวหน้าระหว่างเนื้อฟันและสารยึดติด (Adhesive) อย่างรวดเร็ว ดังนั้นหลังจากทาสารยึดติดลงบนเนื้อฟันแล้ว จำเป็นต้องทำให้ตัวทำละลาย (Solvent) ระเหยโดยการเป่าลม ถ้าตัวทำละลายระเหยไม่หมดส่งผลให้เกิดการรั่วซึม (leakage) ที่มากขึ้นและความแข็งแรงการยึดติด (Bond strength) ลดลง^{6,7} ความสำเร็จของระบบนี้ขึ้นกับระบบ แอดฮีซีฟที่นำมาใช้ร่วมกับเรซินซีเมนต์ กรณีที่ใช้กรดกัดเนื้อฟันเป็นเวลานานเกินไป จะทำให้คอลลาเจนของเนื้อฟัน (dental collagen) เกิดการเผยแพร่ โดยไม่มีสารยึดติดแทรกซึมเข้าไปในบริเวณดังกล่าว ส่งผลต่อการยึดติดของ เรซินซีเมนต์⁸ ตัวอย่างเรซินซีเมนต์ในระบบนี้คือ เนกซ์สทรี (Nexus III[®], Kerr Corporation, USA) รีเลย์เอ็กซ์ เออาร์ซี (Rely X ARC[®], 3M ESPE) รีเลย์เอ็กซ์วีเนียร์ (Rely X veneer[®], 3M ESPE, Germany) ซุปเปอร์บอนด์ ซีแอนด์บี (Superbond C&B[®], Sun Medical, Japan)

วาริโอลิงค์เอ็น (Variolink N[®], Ivoclar vivadent, Liechtenstein) วาริโอลิงค์วีเนียร์ (Variolink veneer[®], Ivoclar vivadent, Liechtenstein) ระบบที่สอง เรซินซีเมนต์ชนิดเซล์ฟเอทช์ (Self etch) มีส่วนประกอบของโมโนเมอร์ที่เป็นกรดซึ่งไม่จำเป็นต้องล้างออก (Non rinsing acidic monomers) สามารถกัดกร่อน (Etch) และเคลือบ (Prime) บนเคลือบฟันและเนื้อฟันได้ ระบบการยัดนี้มีทั้ง 1 ขั้นตอน (One-step) ซึ่งมี ส่วนของกรดกัดไพรเมอร์และสารยึดติดทั้งหมดอยู่ภายในขวดเดียวกัน และแบบ 2 ขั้นตอน (Two-step) ซึ่งประกอบด้วยไพรเมอร์ที่มีคุณสมบัติกัดกร่อนในตัว (Self-etching primer) และเรซินยึดติด (Resin adhesive) คุณสมบัติการกัด กร่อนของระบบนี้น้อยกว่าการดฟอสฟอริก และมีการสร้างเรซินแทก (resin tag) ในเคลือบฟันที่ไม่เด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับกรดฟอสฟอริก^{8,9} ระบบนี้ เซลล์ฟเอทช์นี้กำจัดชั้นเคลือบบางส่วนและเกิดการละลายแร่ธาตุโดยโมโนเมอร์ที่เป็นกรดและเส้นใยคอลลาเจนที่อยู่ระหว่างท่อเนื้อฟันจะถูกเปิดออก ส่วนของแร่ธาตุที่ถูกกำจัดออกจะถูกแทนที่โดยโมโนเมอร์ ของเรซิน (Resin monomers) เคลือบหรือฝัง (Impregnation) อยู่ในชั้นเคลือบ เกิดเป็นการยึดติดเชิงกล (Mechanical interlocking) ภายในช่องว่างระหว่างเส้นใยคอลลาเจน^{10,11} ความรุนแรงของกรดในระบบนี้แบ่งได้ตามค่าแสดงความเป็นกรดเบส (pH) เป็น 4 กลุ่มดังนี้ คือ กลุ่มที่ 1 มีความเป็นกรดสูง (strong) ค่าความเป็นกรดเบสน้อยกว่า 1 (pH<1) กลุ่มนี้มีความสามารถละลาย ฟันผิวฟันได้ใกล้เคียงกับระบบโททอลเอทช์ กลุ่มที่ 2 มีความเป็นกรดปานกลาง (intermediately strong) ค่าแสดงความเป็น กรดเบสประมาณ 1.5 (pH ≈ 1.5) กลุ่มที่ 3 มีความเป็นกรดอ่อน (mild) ค่าแสดงความเป็นกรดเบสประมาณ 2 (pH ≈ 2) กลุ่มที่ 4 มีความเป็นกรดน้อยมาก (ultra-mild) ค่าแสดงความเป็น กรดเบสตั้งแต่ 2.5 (pH>2.5) เรซินซีเมนต์ชนิดเซล์ฟเอทช์นี้มีการปิดผนึก (Seal) บริเวณเนื้อฟันได้ดีเนื่องจากสเมียร์พ러그 (Smear plug) ไม่ถูกกำจัดออกไป ถูกปรับสภาพให้เหมาะสมกับการยึดติดและเกิดการละลายแร่ธาตุ ประสิทธิภาพของระบบยัดแบบเซลล์ฟเอทช์ ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของระบบยัดติดอายุการเก็บรักษา (Shelf-life) และอายุของสารยึดติด (Aging) เรซินซีเมนต์ชนิดเซล์ฟเอทช์นี้มีแรงยึดกับเคลือบฟันน้อยกว่าชนิดโททอลเอทช์^{6-8,12,13} แต่มีข้อดีคือ ขั้นตอนการทำงานน้อยลง¹⁴ มีการละลายแร่ธาตุของแท่งเคลือบฟัน (enamel prism) ที่น้อยกว่าการกำจัดชั้นเคลือบฟัน ท่อเนื้อฟันเพียงบางส่วน ทำให้ป้องกัน การเกิดการซึมผ่านภายในท่อเนื้อฟัน (dentine permeability) ที่มากขึ้น และลดการเสียวฟันหลังการบูรณะ เมื่อเปรียบเทียบกับเรซินซีเมนต์ชนิดโททอลเอทช์¹⁴ ตัวอย่างเรซินซีเมนต์ในระบบนี้ เช่น พานาเวียเอฟ (Panavia F[®], Kuraray, USA) พานาเวียเอฟทู (Panavia F2.0[®], Kuraray, USA) มัลติลิงค์ออโตมิคซ์ (Multilink automix[®], Ivoclar

Vivadent, Liechtenstein) มัลติลิงค์ออโตมิคซ์เอ็น (Multilink automix N[®], Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) และเรซินซีเมนต์ชนิดใหม่ในกลุ่มนี้คือ รีเลย์เอ็กซ์ทีเอ็ม (RelyXTM Ultimate, 3M ESPE, Germany) ซึ่งเป็นเรซินซีเมนต์ชนิดใหม่ที่มีการเติมสารกระตุ้นปฏิกิริยาที่ปราศจากแสง (dark cure activator) โดยทางบริษัทแนะนำให้ใช้ร่วมกับซิงเกิลบอนด์ยูนิเวอร์แซลแอดฮีซีฟ (Single Bond Universal Adhesive, 3M ESPE, Germany) ทำให้ซิงเกิลบอนด์ยูนิเวอร์แซลแอดฮีซีฟเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์เซชันจากปฏิกิริยาเคมีได้โดยไม่ต้องฉายแสงก่อน¹⁵ ระบบที่สาม เรซินซีเมนต์ชนิดเซล์ฟแอดฮีซีฟ (Self adhesive) ระบบนี้กำจัดขั้นตอนในการปรับสภาพพื้นผิวฟัน เพื่อลดความผิดพลาดในแต่ละขั้นตอนเตรียมฟัน กำลังแรงยึดจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา เมื่อมีการใช้ตามคำแนะนำของบริษัท^{16,17} แต่มีหลายการศึกษาพบว่าเมื่อมีการใช้ไพรเมอร์ก่อนการใช้เรซินซีเมนต์ ระบบเซลล์ฟแอดฮีซีฟ จะมีผลในการเพิ่มกำลังแรงยึดของเรซินซีเมนต์ให้มากขึ้น¹⁷⁻²³ เรซินซีเมนต์ในกลุ่มเซลล์ฟแอดฮีซีฟนี้ รวมคุณสมบัติปรับสภาพผิวสามารถยึดติดกับเนื้อเยื่อของฟันรวมทั้งการแทรกซึมของเรซินโดยไม่ต้องใช้กรดกัดพื้นผิวเคลือบฟันและเนื้อฟัน และไม่ต้องใช้ระบบการยึดติดเข้ารวมกลไกการยึดติดอาศัยพันธะทางเคมี (chemical bonding) ด้วยมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟังก์ชัน (functional group) ที่ชอบน้ำและเป็นอนุพันธ์ของกรดซึ่งทำหน้าที่คีเลต (Chelate) แคลเซียมไอออน (Calcium ion) ของไฮดรอกซีแอพพาไทท์ (Hydroxyapatite) ของฟัน²⁴ และมีการแทรกซึมของสารบอนด์ดีนึ่งทำให้เกิดการยึดติดเชิงเคมีเรซินซีเมนต์ชนิดเซลล์ฟแอดฮีซีฟละลายชั้นเคลือบเพียงเล็กน้อยโดยกำจัดสเมียร์พ러그 ไม่เปิดท่อเนื้อฟันและไม่ละลายเนื้อเยื่อฟันจึงไม่ทำให้เกิดการเสียวฟัน โดยทั่วไปเรซินซีเมนต์ชนิด เซล์ฟแอดฮีซีฟมีแรงยึดที่น้อยกว่าเรซินซีเมนต์ชนิดโททอลเอทช์และเซลล์ฟเอทช์และนอกจากนี้ เรซินซีเมนต์ ชนิดเซลล์ฟแอดฮีซีฟส่วนใหญ่ ยกเว้น รีเลย์เอ็กซ์ทีเอ็มมีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ในระดับต่ำคงที่ส่งผลเสียต่อ การยึดติดขึ้นงานด้วยซีเมนต์ (Cementation) การใช้เรซินซีเมนต์ชนิดเซลล์ฟแอดฮีซีฟนี้จำเป็นต้องอาศัย แรงกด เพื่อให้เกิดการสัมผัสที่แนบที่สุด (Maximum contact) ระหว่างเรซินซีเมนต์และเนื้อฟัน ขณะยัดติดต้องมีการควบคุมความชื้น เนื่องจากเกิดการรั่วซึมของของเหลวขณะเริ่มแข็งตัว (Initial setting) ส่งผลเสียต่อคุณภาพของการยึดติดของเรซินซีเมนต์ได้^{6-7,12,24} เรซินซีเมนต์กลุ่มเซลล์ฟแอดฮีซีฟนี้ยึดติดกับเนื้อฟันได้ดีกว่าผิวฟัน²⁵ มีกำลังแรงยึดเฉือน (shear bond strength) กำลังแรงยึดดึง (tensile bond strength) และความแข็งแรง (hardness) การยึดติดในชั้นเคลือบฟันและเนื้อฟันต่ำกว่าระบบโททอลเอทช์และเซลล์ฟเอทช์^{23,26-29} แต่เมื่อมีการใช้ไพรเมอร์ (primer) ร่วมกับเรซินซีเมนต์ชนิดนี้จะช่วยเพิ่มความแข็งแรงยึดเฉือน

(shear strength) ได้ เพราะไพรเมอร์มีความหนืด (Viscosity) น้อยกว่า เรซินซีเมนต์

เนื่องจากเรซินซีเมนต์ชนิดเซลล์แฟลตอีซีฟนี้ใช้งานง่ายจึงได้มีงานวิจัยเพื่อพัฒนาคุณสมบัติทางกล (mechanical properties) กำลังแรงดัด (flexural strength) ความแข็ง (hardness) และเพิ่มปฏิกิริยากับเนื้อฟัน ทำให้เกิดพันธะไอออนิก (ionic bond) ที่ระหว่างไพรเมอร์และแคลเซียมบนคอลลาเจนไฟเบอร์ของเนื้อฟัน³⁰ ตัวอย่างของเซลล์แฟลตอีซีฟเรซินซีเมนต์ เช่น รีไลเอกซ์ยูนิเซ็ม (RelyX Unicem[®], 3M ESPE, Germany) แม็กเซ็ม (Maxcem[®], Kerr cooperation, USA) บิสเซ็ม (Biscem[®], Bisco, Schaumburg IL) มัลติลิงค์ สปลินท์ (Multilink splint[®], Ivoclar vivadent, Liechtenstein) จีเซ็ม (G-Cem[®], GC, USA) สปีดเซม (Speed CEM[®] Ivoclar vivadent, Liechtenstein)³¹ เป็นต้น

ในเรซินซีเมนต์แต่ละระบบจะมีความหนาของชั้นที่เกิดการแพร่ผ่านระหว่างเรซินและเนื้อฟัน (resin-dentine interdiffusion zone (RDIZ)) หรือเรียกว่าชั้นไฮบริด (hybrid layer) แตกต่างกัน โดยพบความหนาที่มากที่สุดในเรซินซีเมนต์ชนิดไฮบริดและล้างออกประมาณ 5-7 ไมโครเมตร³² รองลงมาคือชนิดเซลล์แฟลตอีซีฟประมาณ 0-2 ไมโครเมตร แต่ไม่พบในเรซินซีเมนต์ชนิดเซลล์แฟลตอีซีฟ³³ ทำให้ไม่เกิดการยึดติดเชิงกล แต่จะเกิดในกรณีที่ใช้ไพรเมอร์และบอนด์ก่อนการใช้เซลล์แฟลตอีซีฟเรซินซีเมนต์เท่านั้น และจะพบมากเมื่อมีการใช้กรดกัดฟันร่วมด้วย³⁴ การผสมเรซินซีเมนต์ ด้วยมือ (Hand-mixed) มักเกิดฟองอากาศในส่วนผสมไม่เนียนเป็นเนื้อเดียวกัน ส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุ สาเหตุของการเกิดฟองอากาศที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ การที่มีอากาศเข้าไปแทรกตัวระหว่างชั้นงานและซีเมนต์ขณะยัดขึ้นงาน การใช้เรซินซีเมนต์มักเกิดปัญหา คือ ความไวต่อเทคนิคของการใช้งาน เช่น การเตรียมพื้นผิวขึ้นงานและฟันก่อนการยัดติดให้เหมาะสมกับเรซินซีเมนต์แต่ละชนิด มีขั้นตอนการปรับสภาพพื้นผิว ด้วยกรดและ/หรือไพรเมอร์และการควบคุมความหนาฟิล์มของซีเมนต์ให้เหมาะสม โดยเฉพาะในรายที่ใช้ยัดเดียวฟันสำเร็จรูปเสริมไฟเบอร์ (prefabricated composite fiber reinforced post) ที่มีคลองรากฟันขนาดใหญ่บริเวณคลองรากฟันที่กว้างมักมีความหนาของเรซินซีเมนต์ที่หนาเกินไป ก่อให้เกิดฟองอากาศในส่วนผสมซีเมนต์หรือในชั้นระหว่าง ซีเมนต์กับเนื้อฟันและ/หรือชั้นงานบูรณะ³⁵⁻³⁷ การรวมกันของฟองอากาศในชั้นของเรซินซีเมนต์สามารถทำให้เกิดการรั่วซึมในระดับไมโครได้ (microleakage) โดยเฉพาะฟองอากาศที่เกิดระหว่างเดือยฟันสำเร็จรูปและเรซินซีเมนต์³⁵ ทำให้เกิดการหลุดของเดือยฟันได้ในเรซินซีเมนต์ที่มีความหนามาก³⁸⁻⁴⁷ ก่อให้เกิดฟองอากาศและรูพรุนซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพ (Physical properties) และอายุการใช้งานของวัสดุ⁴⁸ เนื่องจากฟอง

อากาศทำให้ลดพื้นที่สัมผัสระหว่างเรซินซีเมนต์ และเนื้อฟันเป็นจุดเริ่มของการเกิดรอยร้าว (Crack initiation) และเป็นจุดที่มีการสะสมความเค้น (Stress concentration) เพิ่มขึ้น ทำให้ลดความแข็งแรงของเรซินซีเมนต์ลง^{49,50} Pedreiraและคณะ⁵¹ พบว่าการใช้เซนทริกไซริงค์ (Centrix syringe) ผสมเรซินซีเมนต์สามารถช่วยการเกิดฟองอากาศในเรซินซีเมนต์ได้

สหภาพเคมีบริสุทธิ์และเคมีประยุกต์ระหว่างประเทศ (International Union of Pure and Applied Chemistry: IUPAC) จำแนกฟองอากาศออกเป็น 3 ประเภทตามขนาดของฟองอากาศได้แก่ 1.ไมโครพอร์ (Micropores) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 2 นาโนเมตร 2.เมโซพอร์ (Mesopores) ซึ่งขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 2 นาโนเมตร ถึง 50 นาโนเมตร 3.แมโครพอร์ (Macropores) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 50 นาโนเมตร^{48,50} Milutinovic-Nikolic และคณะ⁵² ได้นิยามฟองอากาศออกเป็น 3 ชนิด ตามลักษณะของฟองอากาศดังนี้ 1.ฟองอากาศชนิดปิด (Closed pores) ฟองอากาศชนิดนี้ของเหลวไม่สามารถเคลื่อนผ่านฟองอากาศได้ ไม่เอื้อต่อการแทรกซึมของของเหลว 2.ฟองอากาศชนิดบอด (Blind pores) ฟองอากาศชนิดนี้มีความลึกมากกว่าฟองอากาศชนิดปิดเป็นที่สะสมของเชื้อแบคทีเรียได้หากเกิดการรั่วซึมของชั้นงานบูรณะ 3.ฟองอากาศชนิดทะลุผ่าน (Through pores) เกิดเป็นช่องว่างทะลุระหว่างสองฝั่งของชั้นเรซินซีเมนต์ ฟองอากาศสองชนิดคือชนิดบอด และทะลุผ่านนี้เป็นฟองอากาศที่มีลักษณะเปิด ทำให้ของเหลวในช่องปาก แบคทีเรีย และสารพิษของแบคทีเรีย สามารถผ่านเข้าไปถึงพื้นผิวเนื้อฟันที่เปิดออก (Unprotected dentin) ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเปรียบเทียบการยัดเดือยฟันและครอบฟันด้วยเรซินซีเมนต์กับซีเมนต์ชนิดอื่นๆ เรซินซีเมนต์เกิดฟองอากาศน้อยที่สุด และฟองอากาศมีขนาดเล็กกว่า 20 นาโนเมตร ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าเรซินซีเมนต์มีประสิทธิภาพที่ดีในการป้องกันการรั่วซึมของของเหลวในช่องปากแบคทีเรีย และสารพิษของแบคทีเรีย⁵²

จากการศึกษาของ Mansur และคณะ⁵³ กล่าวว่า ความหนาฟิล์มของเรซินซีเมนต์มีผลโดยตรงต่อความสำเร็จระยะยาวทางคลินิก (Long-term clinical success) และความหนาฟิล์มของเรซินซีเมนต์ที่บางช่วยลดการเกิดฟองอากาศ⁵⁴ งานวิจัยดังกล่าวพบว่าขนาด รูปร่าง ความหนืดของวัสดุอัดแทรก (Filler) มีผลต่อความหนืดเรซินซีเมนต์ อัตราการแข็งตัวมีผลต่อความหนาฟิล์มของเรซินซีเมนต์ งานวิจัยอื่น ๆ ยังพบว่าขั้นตอนในการใส่เรซินซีเมนต์และการหดตัวในขบวนการแข็งตัว (polymerization shrinkage) มีผลต่อจำนวนฟองอากาศระหว่างชั้นของเรซินซีเมนต์^{35,40,55} ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้มีความแตกต่างกันออกไปตามกระบวนการผลิตของแต่ละบริษัท ปัญหาของการไม่สามารถควบคุมความหนาฟิล์มของเรซินซีเมนต์มักเกิดขึ้นเมื่อใช้ในการ

ยึดเดือยฟันสำเร็จรูปคอมโพสิทเสริมไฟเบอร์ (Fiber reinforced composite posts) ในรากฟัน เนื่องจากเดือยชนิดดังกล่าวมักไม่แนบกับผนังคลองรากฟัน โดยเฉพาะในรายที่ผนังคลองรากถูกทำลายจากรอยผุขนาดใหญ่ มีการขยายคลองรากที่มากเกินไป (Over-instrumentation) เกิดการสร้างผนังคลองรากที่ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากได้รับการกระทบกระเทือนระหว่างการพัฒนา โครงสร้างของรากฟัน หรือแม้แต่การมีลักษณะคลองรากที่เป็นทรงรี (ovoid canals) ในคลองรากฟันที่มีลักษณะดังกล่าว ทำให้เกิดเรซินซีเมนต์หนาไม่สม่ำเสมอระหว่างเดือยฟันและผนังคลองราก^{56,57} ส่งผลโดยตรงต่อความหนาฟิล์มของเรซินซีเมนต์ โดยเฉพาะเรซินซีเมนต์ที่ใช้ในการยึดเดือยฟัน มักมีความหนาบริเวณคลองรากฟัน ส่วนต้น (coronal third) มากกว่าบริเวณอื่น ซึ่งมักเกิดฟองอากาศบริเวณดังกล่าว^{37,51,58} แตกต่างจากการทดลองของ Silva และคณะ⁵⁹ ที่พบว่า ฟองอากาศมักเกิดบริเวณคลองรากฟันส่วนปลาย (apical third) มากกว่า เนื่องจากการใส่เรซินซีเมนต์บริเวณนี้ทำได้ยาก⁶⁰ รูปร่างของคลองรากฟันที่แตกต่างกันส่งผลต่อปริมาณและการกระจายตัวของเรซินซีเมนต์ในคลองรากฟันและอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการสร้างฟองอากาศ⁴² และในขณะใส่เดือยฟันมีผลต่อการนำฟองอากาศเข้าไปในคลองรากฟัน⁴⁹ ซึ่งทำให้เกิดฟองอากาศหรือช่องว่างระหว่างเนื้อฟันเดือยฟันและเรซินซีเมนต์ ในรายงานของ Gomes และคณะ⁶¹ พบว่า ในคลองรากฟันที่มีความหนาพบความหนาของเรซินซีเมนต์ได้ตั้งแต่ 341.9-653.3 ไมโครเมตร และในคลองรากที่มีการยึดเดือยฟันสำเร็จรูปคือ 75.2 - 653.3 ไมโครเมตร Eduardo A และคณะ⁶² พบว่า การใช้วัสดุคอมโพสิตเรซินทาที่เดือยฟันไฟเบอร์ในขั้นตอนการยึดด้วยเรซินซีเมนต์มีผลช่วยในการลดการเกิดฟองอากาศได้ โดยไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องอัลตราโซนิกช่วยในการยึด จากงานวิจัยของ Vichi และคณะ⁴² พบว่า การใช้เลนต์รูสไปรอล (lentulo spiral) ในขั้นตอนการยึดวัสดุบูรณะช่วยลดจำนวนฟองอากาศในชั้นเรซินซีเมนต์ได้

ตารางที่ 1 วิธีการผสม สารประกอบและผู้ผลิตเรซินซีเมนต์ที่ใช้ในการศึกษา

Table 1 Mixing technique, composition and manufacturers of the resin cements used

Resin cement	Mixing technique	Composition	Manufacturers
Superbond C&B	Hand mix	Monomer: 4-Methacryloxyethyl trimellitate anhydride (4-META), Methyl-methacrylate (MMA) Catalyst: Partially oxidated tributylborane (TBB) Powder: Polymethylmethacrylate	Sun Medical, Shiga, Japan
Maxem Elite	Automix	Liquid: Methacrylate phosphoric ester, Dimethacrylate, Acetate, Stabilizer, Initiator Powder: Glass powder, Silica, Calcium hydroxide, Pigments, Substituted pyrimidine, Peroxy compound, Initiator, 67% wt fillers (3.6 µm)	Kerr, Orange CA, USA

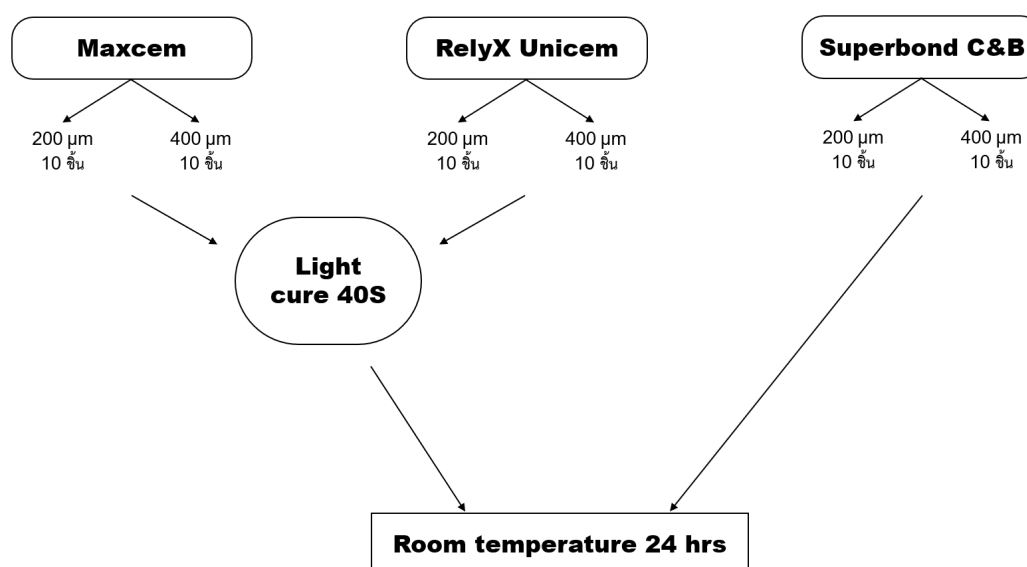
การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณและขนาดฟองอากาศในชั้นเรซินซีเมนต์ 3 ชนิด ที่นิยมนำมายึดเดือยฟันสำเร็จรูปคอมโพสิทเสริมไฟเบอร์ได้แก่ ซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี (Sun Medical, Japan) แม็กเซ็มอีลิท (Kerr, USA) และรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม (3M ESPE, USA) ที่ความหนาฟิล์ม 200 และ 400 ไมโครเมตร ซึ่งเป็นความหนาฟิล์มที่อาจพบได้ในการยึดเดือยฟันสำเร็จรูปในคลองรากที่มีความผายมากหรือคลองรากที่ได้รับการขยายมากเกินไป โดยซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี (Sun Medical, Japan) เป็นตัวแทนเรซินซีเมนต์ชนิดโททอลเอ็ทซ์แม็กเซ็มอีลิท (Kerr, USA) เป็นตัวแทนเรซินซีเมนต์ชนิดเซล์ฟเอ็ทซ์ และรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม (3M ESPE, USA) เป็นตัวแทนของชนิดเซล์ฟแอตตีฟ ภายใต้สมมติฐานว่าปริมาณฟองอากาศในเรซินซีเมนต์ 3 ชนิดที่มีความหนา 200 และ 400 ไมโครเมตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การจำลองความหนาฟิล์มของเรซินซีเมนต์ 200 และ 400 ไมโครเมตร ทำโดยการเตรียมความหนาฟิล์มดังกล่าวด้วยสติ๊กเกอร์ทรงกลมมีรูตรงกลางเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 มิลลิเมตร ที่มีความหนา 200 ไมโครเมตร ติดลงบนแท่นแก้ว (Glass Slab) ส่วนการสร้างแบบพิมพ์ความหนา 400 ไมโครเมตร ทำโดยการนำสติ๊กเกอร์ทรงกลมมีรูตรงกลางมาซ้อนกันให้พอดี 2 ชั้นแล้วติดลงบนแท่นแก้วเรซินซีเมนต์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี (Sun Medical, Japan) แม็กเซ็มอีลิท (Kerr, USA) และรีไลเอ็กซ์ยูนิเซ็ม (3M ESPE, USA) ตามตารางที่ 1 ผสมตามคำแนะนำของผู้ผลิต สร้างขึ้นทดสอบเรซินซีเมนต์ 3 ชนิด ลงรูปทรงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 มิลลิเมตร ที่มีความหนา 200 และ 400 ไมโครเมตร 10 ชิ้น ดังภาพที่ 1 โดยด้านบนของเรซินซีเมนต์ทำการกดทับด้วยกดทับด้วยแผ่นแก้ว 2 อัน ซึ่งมีน้ำหนัก 500 กรัม

Table 1 Mixing technique, composition and manufacturers of the resin cements used

Resin cement	Mixing technique	Composition	Manufacturers
Rely X Unicem	Automix	Base: Silane-treated glass powder, 2-propenoic acid, 2-methyl-1,1[1-(hydroxymethyl)-1,2-ethanediy] ester, reaction products with 2-hydroxy-1,3-propandediyl dimethacrylate and phosphorous oxide, TEDGMA, silane-treated silica, soium per sulfate, glass powder, tert-butyl peroxy-3,5,5-trimethylhexanoate, 72% wt. filler (size <9.5 μm) Catalyst: Silane-treated glass powder, substituted dimethacrylate, silane-treated silica, 1-benzyl-5-phenyl-barbic-acide, calcium salt, sodium p-toluenesulfinate, 1,12-dodecane dimethacrylate, calcium hydroxide.	3M ESPE, St. Paul MN, USA

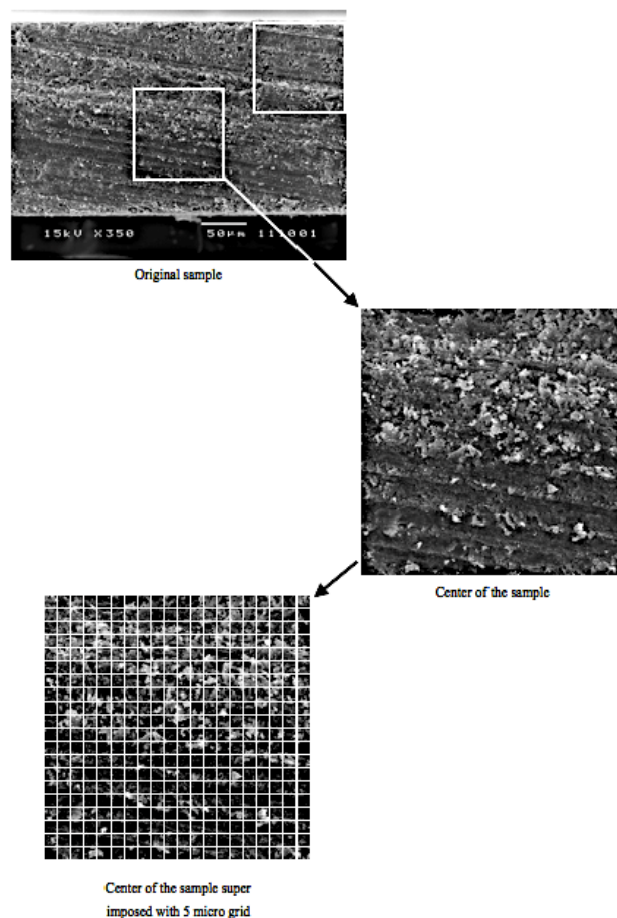


รูปที่ 1 การเตรียมกลุ่มตัวอย่างเรซินซีเมนต์ที่มีความหนา 200 และ 400 ไมโครเมตร เพื่อศึกษาจำนวน และขนาดฟองอากาศภายใต้กล้องอิเล็กตรอนส่องกราด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราดที่กำลังขยาย 350 เท่า

Figure 1 Sample preparation of resin cement at thickness 200 and 400 micron to examination the number and size of void under SEM at 350X magnification

การกระตุ้นให้เกิดโพลิเมอร์เรซินโดยแม็กเนติกอีลิท (Kerr, USA) และรีเลย์เอ็กซ์ยูนิเซม (3M ESPE, USA) ผ่านการฉายแสงด้วยแสงสีน้ำเงินความยาวคลื่น 425 นาโนเมตร ด้วยเครื่องฉายแสง LED (Demi LED light curing system, Kerr, USA) 40 วินาที ด้านบน ส่วนซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี (Sun Medical, Japan) ปลอ่ยให้บ่มตัวเอง ณ อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ภายหลังขึ้นงานเรซินซีเมนต์ได้ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิห้องครบ 24 ชั่วโมง ขึ้นงาน ทดสอบนำมาตัดแบ่งบริเวณกึ่งกลาง โดยใช้เข็มกรอเคลือบกากเพชรรูปจาน (Diamond disk, NTI-Kahla GmbH, Germany) บนเครื่องมือไมโครมอเตอร์ (Micromotor, Perfectz 300 W&H, Austria) และทำความสะอาด

ด้วยเครื่องอัลตรา-โซนิคที่ความถี่ 42 kHz (Prosonic ultrasonic clear model 300MT) เป็นเวลา 10 นาที ขึ้นงานทดสอบที่ผ่านการเตรียมแล้วนำมาเคลือบทอง ก่อนศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราด (Scanning Electron Microscope: JEOL JSM-5410 LV, Japan) ที่กำลังขยาย 350 เท่า แรงดันไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์โดยวางแผนตัดชิ้นงานให้ขนานกับพื้นราบ จากนั้นนำภาพที่กำลังขยาย 350 เท่า มากำหนดพื้นที่รูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 100 ไมโครเมตร ที่บริเวณส่วนกลางของชิ้นงาน โดยการสุ่มตำแหน่งภาพภายในพื้นที่สี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 100 ไมโครเมตร นำมาตีตารางขนาด 5 ไมโครเมตร จำนวน 20 ช่องในแนวตั้งและแนวขวางดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราดที่ตำแหน่งกึ่งกลางชิ้นงานตัวอย่างที่กำลังขยาย 350 เท่านำมาตีตารางขนาด 5 ไมโครเมตรเพื่อวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของฟองอากาศในเรซินซีเมนต์

Figure 2 SEM image at 350X magnification, at the center of the image was selected for examination and 5 micrometers grids were drawn to measure the diameter of the voids in resin cements.

รูปที่ผ่านการตีตารางนำมาวัดขนาดและจำนวนฟองอากาศ โดยจำแนกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของฟองอากาศออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ขนาดระหว่าง 1-5 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 2 ขนาดระหว่าง 6-10 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 3 ขนาดระหว่าง 11-15 ไมโครเมตร

ผลการศึกษา

จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราด (ตารางที่ 2)

พบว่าในเรซินซีเมนต์ทั้ง 3 ชนิดพบค่าเฉลี่ยจำนวนฟองอากาศในกลุ่มที่ 1 คือ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-5 ไมโครเมตร มากที่สุด โดยในความหนา 200 ไมโครเมตร พบจำนวนฟองอากาศดังนี้ ซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี (Sun Medical, Japan) 23.80+5.37 แมกซีเอ็มอีไลท์ (Kerr, USA) 148.80+23.01 และ รีไลซ์เอ็กซ์ยูนิเซม

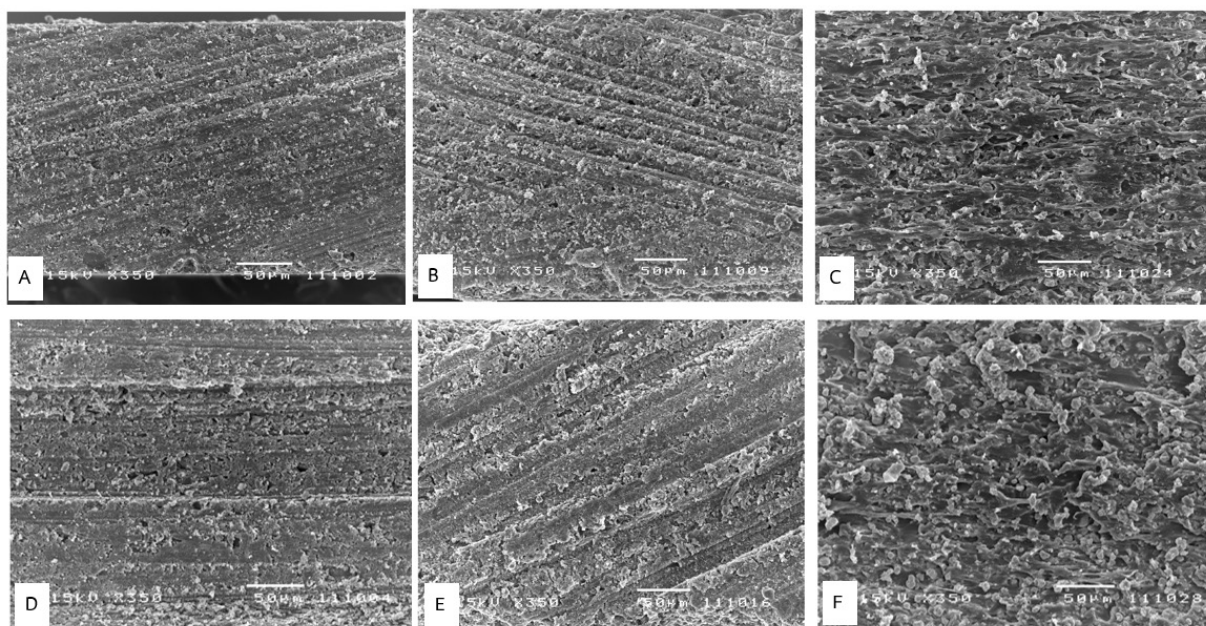
(3M ESPE, USA) 114.40+9.67 และในความหนา 400 ไมโครเมตร ซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี (Sun Medical, Japan) 22.80+8.05 แมกซีเอ็ม-อีไลท์ (Kerr, USA) 158.20+13.91 และ รีไลซ์เอ็กซ์ยูนิเซม (3M ESPE, USA) 111.80+11.68 ตัวอย่างลักษณะฟองอากาศที่เกิดขึ้นในเรซินซีเมนต์ทั้ง 3 ชนิดที่ความหนา 200 และ 400 ไมโครเมตร ทำการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราดเป็นดังรูปที่ 3

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรวมของฟองอากาศภายในกลุ่มที่ความหนาฟิล์ม 200 และ 400 ไมโครเมตร ของเรซินซีเมนต์ ซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี แมกซีเอ็มอีไลท์ และ รีไลซ์เอ็กซ์ยูนิเซมด้วยสถิติ Krusal Wallis พบว่าใน เรซินซีเมนต์ทั้งสามชนิดซึ่งมีความหนาที่ต่างกัน ค่าเฉลี่ยจำนวนฟองอากาศไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-value} > 0.05$)

ตารางที่ 2 จำนวนและขนาดของรูอากาศของเรซินซีเมนต์แต่ละชนิด ที่ความหนา 200 ไมโครเมตรและ 400 ไมโครเมตร

Table 2 Number and size of voids for each type of resin cement in film thickness 200 micron and 400 micron

Resin cement	200µm (n=10)			400µm (n=10)			Mean
	Group1 (1-5µm)	Group 2 (6-10µm)	Group 3 (11-15µm)	Group 1 (1-5µm)	Group 2 (6-10µm)	Group 3 (11-15µm)	
Superbond C&B (Sun Medical, Japan)	23.80±5.37	7.60±1.26	12.80±2.10	22.80±8.05	7.40±3.60	17.40±7.97	14.71±8.91
Maxcem Elite (Kerr, USA)	148.80±23.01	0.80±0.63	1.00±0.47	158.20±13.91	2.20±1.03	1.40±1.17	49.67±71.89
Rely X Unicem (3M ESPE, USA)	114.40±9.67	3.20±0.74	0.80±0.63	111.80±11.68	4.00±1.33	0.60±0.52	39.57±53.62



รูปที่ 3 ตัวอย่างภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราดของเรซินซีเมนต์ที่กำลังขยาย 350 เท่า A) แม็กเซ็มอีลิทความหนาฟิล์ม 200 ไมโครเมตร B) รีไลย์ เอ็กซ์ ยูนิเซ็มความหนาฟิล์ม 200ไมโครเมตร C) ซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี ความหนาฟิล์ม 200ไมโครเมตร D) แม็กเซ็มอีลิทความหนาฟิล์ม 400 ไมโครเมตร E) รีไลย์ เอ็กซ์ ยูนิเซ็มความหนาฟิล์ม 400ไมโครเมตร F) ซุปเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี ความหนาฟิล์ม 400ไมโครเมตร

Figure 3 Sample of SEM image of resin cement under 350X magnification A) Maxcem Elite resin cement at 200 micrometers film thickness B) Rely X Unicem resin cement at 200 micrometers film thickness C) Superbond C&B resin cement at 200 micrometers film thickness D) Maxcem Elite resin cement at 400 micrometers film thickness E) Rely X Unicem resin cement at 400 micrometers film thickness F) Superbond C&B resin cement at 400 micrometers film thickness

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรวมของรูอากาศระหว่างเรซินซีเมนต์ต่างชนิดกันที่ความหนา 200 ไมโครเมตร ด้วยสถิติ Jonckheere-Terpstra Test
Table 4 Comparison mean number of voids between different resin cement at 200 micron film thickness by Jonckheere-Terpstra test

Resin cement	Mean+SD 200µm	Sig.
Superbond C&B (Sun Medical, Japan)	14.33+8.22	0.00
Maxcem Elite (Kerr, USA)	50.07+71.87	
Rely X Unicem (3M ESPE, USA)	39.43+54.20	

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรวมของฟองอากาศระหว่างเรซินซีเมนต์ ที่ความหนาต่างชนิดกันที่ความหนา 400 ไมโครเมตร ด้วยสถิติ Jonckheere-Terpstra Test

Table 5 Comparison mean number of voids between different resin cement at 400 micron film thickness by Jonckheere-Terpstra test

Resin cement	Mean+SD 400µm	Sig.
Superbond C&B (Sun Medical, Japan)	15.87+9.27	0.00
Maxem Elite (Kerr, USA)	53.93+75.39	
Rely X Unicem (3M ESPE, USA)	38.80+52.93	

จากตารางที่ 4 และ 5 พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มของเรซินซีเมนต์ทั้ง 3 ชนิด ด้วยสถิติ Jonckheere-Terpstra Test พบว่าที่ความหนา 200 และ 400 ไมโครเมตร มีความต่างของค่าเฉลี่ยของ จำนวนฟองอากาศ อย่างมีนัยสำคัญ ($p\text{-value}<0.05$) ระหว่างซูเปอร์บอนด์ ซี แอนด์ บี แม็กเซ็มอีลิท และรีเลย์ เอ็กซ์ ยูนิเซ็ม

ผลจากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า ที่ความหนาฟิล์ม 200 และ 400 ไมโครเมตรในเรซินซีเมนต์แม็กเซ็มอีลิท มีค่าเฉลี่ยจำนวนฟองอากาศรวมมากที่สุด (49.67+71.89) โดยพบฟองอากาศกลุ่มที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1-5 ไมโครเมตรมากที่สุด ในทั้งความหนาฟิล์ม 200 ไมโครเมตร (148.80+23.01) และ 400 ไมโครเมตร (158.20+13.91) อย่างไรก็ตามในความหนาฟิล์ม 200 ไมโครเมตรจะพบฟองอากาศกลุ่มที่ 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 11-15 ไมโครเมตร (1.00+0.47) รองลงมา และพบฟองอากาศกลุ่มที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 6-10 ไมโครเมตรน้อยที่สุด (0.80+0.63) ต่างจากในความหนา 400 ไมโครเมตร จะพบฟองอากาศกลุ่มที่ 2 เส้นผ่านศูนย์กลาง 6-10 ไมโครเมตรมากเป็นอันดับสอง (2.20+1.03) และพบฟองอากาศกลุ่มที่ 3 เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 11-15 ไมโครเมตรน้อยที่สุด (1.40+1.17)

เรซินซีเมนต์รีเลย์เอ็กซ์ยูนิเซ็มมีค่าเฉลี่ยจำนวนฟองอากาศรวมมากเป็นอันดับสอง (39.57+53.62) โดยทั้ง ในความหนา 200 และ 400 ไมโครเมตร พบฟองอากาศกลุ่มที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1-5 ไมโครเมตรมากที่สุด (114.40+9.67, 111.80+11.68) รองลงมา คือฟองอากาศกลุ่มที่ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-10 ไมโครเมตร (3.20+0.74, 4.00+1.33) และฟองอากาศกลุ่มที่ 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11-15 ไมโครเมตรมีจำนวนน้อยที่สุด ในทั้งสองความหนาฟิล์ม (0.80+0.63, 0.60+0.52)

ส่วนเรซินซีเมนต์ซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บียูนิเซ็มมีค่าเฉลี่ยจำนวนฟองอากาศรวมน้อยที่สุด (14.71+8.91) ในความหนา 200 และ 400 ไมโครเมตร พบฟองอากาศกลุ่มที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1-5 ไมโครเมตรมากที่สุด (23.80+5.37, 22.80+8.05) รองลงมาคือกลุ่มที่ 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11-15 ไมโครเมตร (12.80+2.10, 17.40+7.97) ตามด้วยฟองอากาศกลุ่มที่ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-10 ไมโครเมตร

(7.60+1.26, 7.40+3.60) ซึ่งพบน้อยที่สุดในทั้ง 2 ความหนาฟิล์ม และเมื่อเทียบกับเรซินซีเมนต์ชนิดอื่นที่ใช้ในการศึกษานี้ จะพบว่า ซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี มีค่าเฉลี่ยจำนวนฟองอากาศขนาดใหญ่่มากที่สุด ในความหนา 200 ไมโครเมตร (12.80+2.10) และในความหนา 400 ไมโครเมตร (17.40+7.97)

บทวิจารณ์

ผลการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราด สะท้อนให้เห็นว่าฟองอากาศที่เกิดขึ้นในชั้น เรซินซีเมนต์ ทั้งกลุ่มที่เป็นชนิดผสมด้วยมืออย่างซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี หรือกลุ่มที่ผสมอัตโนมัติผ่านปลายเกลียว (Automixing tip) เช่น แม็กเซ็มอีลิทและรีเลย์เอ็กซ์ยูนิเซ็มโดยการศึกษาพบว่าในกลุ่มเรซินซีเมนต์ที่ผสมอัตโนมัติ ผ่านปลายเกลียว ขนาดฟองอากาศส่วนมากมีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 1-5 ไมโครเมตร ซึ่งเรซินซีเมนต์ผสมด้วยมือ เช่น ซูเปอร์บอนด์ ซีแอนด์บี จะพบฟองอากาศขนาดระหว่าง 6-10 และ 11-15 ไมโครเมตรมากกว่า ลักษณะเด่นของฟองอากาศในเรซินซีเมนต์ ซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บีจะมีลักษณะใหญ่และเชื่อมต่อกันเป็นเครือข่าย เกิดเป็นฟองอากาศชนิดทะลุ (Through pores) ตามการจำแนกฟองอากาศของ Milutinovic-Nilolinilik และคณะ⁵² ลักษณะฟองอากาศดังกล่าวเอื้อต่อการเกิด การรั่วซึมระดับไมโคร (Microleakage) และอาจเป็นที่สะสมของเชื้อจุลินทรีย์ในชั้นเรซินซีเมนต์ ตามหลายงานวิจัยพบว่าการผสมด้วยมือจะทำให้เกิดฟองอากาศมากกว่าการผสมด้วยอัตโนมัติผ่านปลายเกลียว⁴⁹⁻⁵² และจากงานวิจัยของ Boschian และคณะ⁶³ พบว่าวิธีผสมมีส่วนทำให้เกิดฟองอากาศมากกว่าการแข็งตัวของเรซินซีเมนต์ เมื่อพิจารณาตามองค์ประกอบของเรซินซีเมนต์พบว่าปริมาณฟิเลอร์มีผลต่อการเกิดฟองอากาศ จากตารางที่ 1 แสดงถึงองค์ประกอบในเรซินซีเมนต์พบว่าทั้งแม็กเซ็มอีลิทและรีเลย์เอ็กซ์ยูนิเซ็มมีองค์ประกอบของฟิเลอร์อยู่ร้อยละ 67 และ 72 โดยน้ำหนักตามลำดับ ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yoshida และคณะ⁶⁴ และ Somchai และคณะ⁶⁵ ที่กล่าวว่า ซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บีไม่มีส่วนประกอบของวัสดุอัดแทรก

และมียอดประกอบเป็นพอลิเมทิลเมทาคริเลต (Polymethyl methacrylate (PMMA)) เมื่อเกิดกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization) จะเกิดโครงสร้างเป็นเครือข่ายโซ่ ทำให้ในโครงสร้างจะมีลักษณะเป็นตาข่ายและมีรูพรุน และสาเหตุหลักคืออาการที่เกิดจากการระเหยออกไปของเมทิลเมทาคริเลต (Methacrylate (MMA)) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของมอนอเมอร์ ในซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี จึงสรุปได้ว่าปริมาณของวัสดุอุดแทรกส่งผลต่อความหนาแน่นของเรซินซีเมนต์ และมีส่วนช่วยลดขนาดช่องอากาศในชั้นของเรซินซีเมนต์⁶⁶ รวมถึงวิธีการผสมและลักษณะส่วนประกอบของเรซินซีเมนต์ ก็มีผลต่อการเกิดขนาดช่องอากาศเช่นกัน จำนวนและขนาดของช่องอากาศที่มากส่งผลต่อการเกิดการขยายตัวของรอยแตกและทำให้เกิดการแตกร้าว (Cohesive failure) ในชั้นของเรซินซีเมนต์แม้ได้รับแรงเพียงเล็กน้อย จนเกิดความล้มเหลวของการยึดวัสดุบูรณะด้วยเรซินซีเมนต์ได้ ส่วนลักษณะช่องอากาศที่พบในกลุ่มตัวอย่างของเรซินซีเมนต์ แม้กึ่งอิลิทและรีโวลูชันซีเมนต์มีลักษณะเป็นช่องอากาศชนิดปิด (Closed pores) ตามการ จำแนกช่องอากาศของ Milutinovic-Nilolinik และคณะ⁵¹ ซึ่งช่องอากาศ ชนิดดังกล่าวไม่เอื้อต่อการแทรกซึมของ ของเหลว

ภายใต้ข้อจำกัดของการศึกษานี้สามารถสรุปผลการทดลองได้ว่าเรซินซีเมนต์แต่ละชนิดที่มีความหนา ฟิล์ม 200 และ 400 ไมโครเมตร มีค่าเฉลี่ยการเกิดช่องอากาศที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยกลุ่มที่เกิดช่องอากาศมากที่สุดคือเรซินซีเมนต์แม็กเซ็มอิลิท รองลงมาคือรีโวลูชันซีเมนต์ และเรซินซีเมนต์ ซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บี ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าช่องอากาศในเรซินซีเมนต์ซูเปอร์บอนด์ซีแอนด์บีมีขนาดใหญ่มากกว่าสองชนิดแรกที่ได้กล่าวมา และมีลักษณะเชื่อมต่อกันเป็นเครือข่ายต่างจากชนิดอื่นที่มี วัสดุอุดแทรกซึ่งมีช่องอากาศขนาดเล็กและห่างกัน ความหนาฟิล์มไม่มีผลต่อช่องอากาศอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเปรียบเทียบด้วยสถิติ Kruskal-Wallis ได้ค่า (p -value>0.05)

การศึกษาเพิ่มเติม

การศึกษาลงของช่องอากาศที่มีต่อความแข็งแรงแรงกดออกของเดือยฟันสำเร็จรูปเสริมไฟเบอร์ในฟันธรรมชาติ

เอกสารอ้างอิง

1. Mak YF, Lai SC, Cheung GS. Micro-tensile bond testing of resin cements to dentin and an indirect resin composite. *Dent Mater* 2002;18(8):609-21.
2. Marghalani HY. "Sorption and Solubility Characteristics of Self-adhesive Resin Cements. *Dent Mater* 2012;28(10):187-98.
3. Ernst CP, Cohnen U, Stender E. *In vitro* retentive strength of zirconium

oxide ceramic crowns using different luting agents. *J Prosthet Dent* 2005;93(6):551-8.

4. Komal L, Mahesh V. Conventional and Contemporary Luting Cements: An Overview. *J Indian Prosthodont Soc* 2010;10(2):79-88.
5. Saskalauskaitė E, Tam LE, McComb D. Strength, Elastic Modulus, and pH Profile of Self-etch Resin Luting Cements. *J Prosthodont* 2008;17(4):262-8.
6. Hill EE, Lott J. A clinically focused discussion of luting materials. *Aust Dent J* 2011;56(1 Suppl):67-76.
7. Duarte S, Sartori N, Sadan A, Phark J. Adhesive Resin Cements for Bonding Esthetic Restorations: A Review. *Quintessence Dent Technol* 2011;34(1): 42-54.
8. Carlos RGT, Léia QP, André GL, César RP, Alessandra BB. Interaction between total etch and self etch adhesives and conventional and self adhesive resin cement. *Braz J Oral Sci* 2007;6(22):1376-82.
9. Tasushi S, Janji T. Effect of regional enamel and prism orientation on resin bonding. *Oper Dent* 2003;28(1):20-7.
10. Franklin R T, Nigel M K, Kar-mun C, David H P. How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? *J Adhes Dent* 2002;4(4):255-69.
11. Marcelo G, Patricia M, Ana PAA, Paulo MV, Bruna MF, Toru N, et al. Self-Etch Adhesive Systems: A Literature Review. *Braz Dent J* 2015;26(1):3-10.
12. Benetti P, Fernandes VV, Torres CR, Pagani C. Bonding Efficacy of New Self-etching, Self-adhesive, Dual-curing Resin Cements to Dental Enamel. *J Adhes Dent* 2011;13(3):231-4.
13. Toledano M, Osório R, de Leonardi G, Rosales-Leal JI, Ceballo L, Cabrerizo-Vilchez MA. Influence of self-etching primer on the resin adhesion to enamel and dentin. *Am J Dent* 2001;14(4):205-10.
14. Holiel A, Abdel-Fattah W, El Mallakh B. Bond strength and interfacial morphology of a multi-mode adhesive resin cement to enamel and dentin. *Alex Dent J* 2015;40(2):133-9.
15. Siwaphon S, Pavisuth K, Weeranuch T. Effect of Dark Cure Activators in Resin Cements on Shear Bond Strength of Self-etch Adhesives. *CM Dent J* 2017;38(1):49-62.
16. RelyX Unicem 2 Self-Adhesive Resin Cement [webpage]. https://www.3m.com/3M/en_US/company-us/all-3m-products/~/relyx-unicem-2-RelyX-Unicem-2-Self-Adhesive-Resin-Cement/?N=5002385+3294776542&rt=rud. Accessed November 13, 2019.
17. Scaminaci R D, Pierleoni F, Buti J, Ferrari M, Giachetti L. *In vitro* comparison of bonding effectiveness of different adhesive strategies. *Am J Dent* 2014;27(6):323-9.
18. Michael RM, Jaclyn S, Andrew M, Dustin M, John CM. Comparison of 2 self-adhesive resin cements with or without a self-etching primer. *Gen Dent* 2020;68(1):22-8.

19. Ahn JS, Yi YA, Lee Y, Seo DG. Shear bond strength of MDP-containing self-adhesive resin cement and Y-TZP ceramics: effect of phosphate monomer-containing primers. *Biomed Res Int* 2015; Article ID 389234, 6 pages.
20. Chen C, Xie H, Song X, Zhang F. Effects of a zirconia primer and a self-adhesive resin cement on zirconia bonding. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2013;31(5):500-3.
21. Casucci A, Goracci C, Chieffi N, Monticelli F, Giovannetti A, Juloski J, et al. Microtensile bond strength evaluation of self-adhesive resin cement to zirconia ceramic after different pre-treatments. *Am J Dent* 2012;25(5):269-75.
22. Cavalcanti AN, Foxton RM, Watson TF, Oliveira MT, Giannini M, Marchi GM. Bond Strength of Resin Cements to a Zirconia Ceramic with Different Surface Treatments. *Oper Dent* 2009;34(3):280-7.
23. Klaisiri A, Krajangta N. Self-Adhesive Resin Cements. *J Dent Assoc Thai* 2015;65(1):11-20.
24. Ferracane JL, Stansburg JW, Bruke FJ. Self-adhesive Resin Cements-Chemistry, Properties and Clinical Considerations. *J Oral Rehabil* 2011;38(4):295-314.
25. Burgess JO, Ghuman T, Cakir D. Self-adhesive resin cements. *J Esthet Restor Dent* 2010;22(6):412-9.
26. Ronaldo GV, Alline K, Carlos EP, Rodrigo SA, Cesar AA, Andre FR. Microtensile bond strength of new self-adhesive luting agents and conventional multistep systems. Comparative Study. *J Prosthet Dent* 2009;102(5):306-12.
27. Pisani-Proenc J, Erhardt MC, Amaral R, Valandro LF, Bottino MA, Castillo-Salmerón RD. Influence of different surface conditioning protocols on microtensile bond strength of self-adhesive resin cements to dentin. *J Prosthet Dent* 2011;105(4): 227-35.
28. Santos MJ, Bapoo H, Rizkalla AS, Santos GC. Effect of dentin-cleaning techniques on the shear bond strength of self-adhesive resin luting cement to dentin. *Oper Dent* 2011;36(5):512-20.
29. Marilia MV, Tatiana RN, Cassiana KS, et al. Improved mechanical performance of self-adhesive resin cement filled with hybrid nanofibers-embedded with niobium pentoxide. *Dent mater* 2019; 35(11):272-85.
30. Meharry MR, Schwartz J, Montalvo A, Mueller D, Mitchell JC. Comparison of 2 self-adhesive resin cements with or without a self-etching primer. *Gen Dent* 2020;68(1):22-8.
31. Sattthachai P, Sirimongkolwattana S, Mamanee T. New Adhesive System and Resin Cement. *CM Dent J* 2015;36(2):13-23.
32. Spencer P, Wang Y, Walker MP, Wieliczka DM, Swafford JR. Interfacial chemistry of the dentin/adhesive bond. *J Dent Res* 2000;79(7):1458-63.
33. Monticelli F, Osorio R, Mazzitelli C, Ferrari M, Toledano M. Limited decalcification/diffusion of self-adhesive cements into dentin. *J Dent Res* 2008;87(10):974-79.
34. Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissue. Tokyo;Chicago: *Quintessence Pub.Co.*,1998.
35. Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Borracchini A, Ferrari M. SEM evaluation of the cement layer thickness after luting two different posts. *J Adhes Dent* 2005;7(3):235-40.
36. Ferrari M, Vichi A, Mannocci F, Mason PN. Retrospective study of the clinical performance of fiber posts. *Am J Dent* 2000;13(Spec No):9B-13B.
37. Fredriksson M, Astbäck J, Pamenius M, Arvidson K. A retrospective study of 236 patients with teeth restored by carbon fiber-reinforced epoxy resin posts. *J Prosthet Dent* 1998;80(2):151-7.
38. Mirmohammadi H, Gerges E, Salameh Z, Wesselink PR. Effect of Post Diameter and Cement Thickness on Bond Strength of Fiber Posts. *Quintessence Int* 2013;44(10):801-10.
39. Uzunoğlu E, Türker SA, Yılmaz Z. Influence of Cement Type and Thickness on Polyfiber Post Adhesion. *J Conserv Dent* 2014; 17(3):255-60.
40. Watzkea R, Blunck U, Frankenberger R, Naumann M. Interface homogeneity of adhesively luted glass fiber posts. *Dent Mater* 2008;24(11):1512-7.
41. Fakiha Z, Alaujan A, Saleh Al-Shamrani S. Retention of cast post cemented with zinc phosphate cement using different cementing techniques. *J Prosthodont* 2001;10(1):37-41.
42. Vichi A, Grandini S, Davidson CL, Ferrari M. An SEM evaluation of several adhesive systems used for bonding fiber posts under clinical conditions. *Dent Mater* 2002;18(7):495-502.
43. Ferrari M, Vichi A, Grandini S. Efficacy of different adhesive techniques on bonding to root canal walls: an SEM investigation. *Dent Mater* 2001;17(5):422-9.
44. Prisco D, De Santis R, Mollica F, Ambrosio L, Rengo S, Nicolais L. Fiber post adhesion to resin luting cements in the restoration of endodontically-treated teeth. *Oper Dent* 2003;28(5):515-21.
45. Aksornmuang J, Foxton RM, Nakajima M, Tagami J. Microtensile bond strength of dual-cure resin core material to glass and quartz fibre posts. *J Dent* 2004;32(6):443-50.
46. Carlo R, Gianrico S, Gianluca A, Jelena J, Sandro R, Marco F. Micro-computerized tomographic analysis of premolars restored with oval and circular posts. *Clin Oral Invest* 2014;18(2):571-8.
47. Lundström TS, Gebart BR. Influence from process parameters on void formation in resin transfer molding. *Polymer Composite* 1994;15(1):25-33.
48. Zdravkov BD, Cermak JJ, Sefara M, Janku J. Pore classification in the characterization of porous materials: A perspective. *Cent Eur J Chem* 2007;5(2):385-95.
49. Silva NRD, Aguiar GC, Rodrigues MP, Bicalho AA, Soares PB, Verissimo C, et al. Effect of Resin Cement Porosity on Retention of Glass-Fiber Posts to Root Dentin: An Experimental and Finite Element Analysis. *Braz Dent J* 2015;26(6):630-6.
50. Uzun IS, Malkoç MA, Keles A. 3D micro-CT analysis of void formations and push-out bonding strength of resin cements used for fiber post cementation. *Adv Prosthodont* 2016;8(2):101-19.

51. Pedreira A, D'Alpino P, Pereira P. Effects of the application techniques of self- adhesive resin cements on the interfacial integrity. *J Appl Oral Sci* 2016;24(5):437-46.
52. Milutinovic-Nikolic AD, Medic VB, Vukivic ZM. Porosity of different dental luting cements. *Dental Mater* 2007;23(6):674-8.
53. Mansur FV, Segalla JCM, Beloti AM. Study on film thickness of four resin cements. *Rev Odontol* 2002;31(2):171-7.
54. Nazari A, Sadr A, Shimada Y, Tagami J, Sumi Y. 3D assessment of void and gap formation in flowable resin composites using optical coherence tomography. *J Adhes Dent* 2013;15(3):237-43.
55. Bolhuis P, de Gee A, Feilzer A. The influence of fatigue loading on the quality of the cement layer and retention strength of carbon fiber post-resin composite core restorations. *Oper Dent* 2005;30(2):220-7.
56. Baba NZ, Goodacre CJ, Daher T. Restoration of endodontically treated teeth: the seven keys to success. *Gen Dent* 2009;57(6):596-603.
57. Morgano SM, Rodrigues AC, Sabrosa CE. Restoration of endodontically treated teeth. *Dent Clin N Am* 2004;48(2):397-416.
58. Watzke R, Blunck U, Frankenberger R. Interface homogeneity of adhesively luted glass fiber posts. *Dent Mater* 2008;24(11):1512-17.
59. Silva NRD, Rodrigues MP, Bicalho AA, Soares PBF, Price RB, Soares CJ. Effect of Resin Cement Mixing and Insertion Method into the Root Canal on Cement Porosity and Fiberglass Post Bond Strength. *J Adhes Dent* 2019;21(1):37-46.
60. Goracci C, Grandini S, Bossù M, Bertelli E, Ferrari M. Laboratory assessment of the retentive potential of adhesive posts: a review. *J Dent* 2007;35(11):827-35.
61. Gomes GM, Rezende EC, Gomes OM, Gomes JC, Loguercio AD, Reis A. Influence of the resin cement thickness on bond strength and gap formation of fiber posts bonded to root dentin. *J Adhes Dent* 2014;16(1):71-8.
62. Caceres EA, Sampaio CS, Atria PJ, Moura H, Giannini M, Coelho PG, *et al.* Void and gap evaluation using microcomputed tomography of different fiber post cementation techniques. *J Prosthet Dent* 2017;119(1):103-7.
63. Boschian PL, Cavalli G, Bertani P. Adhesive post-endodontic restorations with fiber posts: push-out tests and SEM observations. *Dent Mater* 2002;18(8):596-602.
64. Yoshida K, Tanagawa M, Atsuta M. In-vitro solubility of three types of resin and conventional luting cements. *J Oral Rehabil* 1998;25(4):285-91.
65. Somchai U, Wutipong L, Chatcharee S. Effect of cement film thickness on shear bond strengths of two resin cements. *M Dent J* 2014;34(2):122-8.
66. Ferrari M, Carvalho CA, Goracci C, Antonioli F, Mazzoni A, Mazzotti G, *et al.* Influence of Luting Material Filler Content on Post Cementation. *J Dent Res* 2009;88(10):951-6.

CONTINUING EDUCATION QUIZ

Journal of The Dental Association of Thailand

Year 2022 Volume 72 Issue 3 July - September 2022

การวิเคราะห์ภาพถ่ายกะโหลกศีรษะด้านข้างในเด็กไทยอายุระหว่าง 7-10 ปี กลุ่มหนึ่ง

ศิพิมพ์ คงเยี่ยม¹, ทิพวรรณ ธราภิวัฒน์นันท์¹, สมกมล วณิชวัฒน์¹

¹ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

- การวัดชนิดใดที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าเซฟาโลเมตริก
 - Linear (mm)
 - Angles
 - Proportions/ Ratios
 - ถูกทุกข้อ
- จุดอ้างอิงใดที่ตั้งอยู่ในส่วนโครงสร้างกระดูกบริเวณแนวกลางใบหน้า (Midline)
 - Gonion
 - Orbitale
 - ANS
 - Porion
- หากต้องการดูความสัมพันธ์ของขากรรไกรบนและล่าง จะพิจารณาจากค่าใด
 - SNA
 - SNB
 - ANB
 - UI-LI
- ถ้าค่ามุม UI-NA มีค่ามากกว่าค่ามาตรฐาน (Norms) หมายความว่าฟันหน้าบนมีลักษณะอย่างไร
 - Proclination
 - Protrusion
 - Retroclination
 - Retrusion
- หากต้องการเปรียบเทียบค่าเซฟาโลเมตริกของระยะฟันตัดหน้าล่าง นอกจากระยะ LI-APog แล้ว ควรเปรียบเทียบกับค่าระยะใด
 - UI-NA
 - LI-NB
 - Wits
 - E-line

กรุณา ลงทะเบียนหรือ Login ใน www.cdec.or.th เพื่อตอบคำถามและรับคะแนน 3 หน่วยกิต

https://www.cdec.or.th/exam_page.php?id=106