



## ผลของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในสารเคลือบหลุมร่องฟันต่อการสูญเสียแร่ธาตุบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟัน

### Effects of Amorphous Calcium Phosphate Containing Sealant on Demineralization at the Enamel-Sealant Interface

อาภา จันท์เทวี<sup>1\*</sup>, นิวัตร จันท์เทวี<sup>2</sup>, สุภาภรณ์ ฉัตรชัยวิวัฒนา<sup>3</sup>, สุจรรยา กนกแก้ว<sup>4</sup> และศิริพรรณ สุทธิสุวรรณ<sup>4</sup>

*Apa Juntavee<sup>1\*</sup>, Niwut Juntavee<sup>2</sup>, Supaporn Chatrchaiwivatana<sup>3</sup>, Sujunya Kanogkaew<sup>4</sup> and Siripan Suthisuwan<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>2</sup>ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>3</sup>ภาควิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

<sup>4</sup>คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\*Correspondent author: [apajun@kku.ac.th](mailto:apajun@kku.ac.th)

Received December 21, 2010

Accepted May 1, 2011

#### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาบทบาทของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในสารเคลือบหลุมร่องฟันต่อการสูญเสียแร่ธาตุบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันในห้องปฏิบัติการ การศึกษานี้ใช้ค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคในการวิเคราะห์ผลของการสูญเสียแร่ธาตุบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟัน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ซีน กลุ่มที่ 1 และ 2 ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันที่มีส่วนผสมของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตชนิดเอกิส Aegis<sup>®</sup> และกลุ่มที่ 3 และ 4 ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันที่ไม่มีส่วนผสมของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตชนิดเดลตัน (Delton<sup>®</sup>) ทำการแช่กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ควบคุมในน้ำกลั่นปราศจากไอออน และแช่ชิ้นตัวอย่างของกลุ่มทดลองในสารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ (pH4.8) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 4 วัน ประเมินการสูญเสียแร่ธาตุโดยใช้ค่าเฉลี่ยผลต่างความแข็งผิวระดับจุลภาค ( $\Delta$ VHN) พบว่าในกลุ่มทดลองที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันชนิดเอกิส (Aegis<sup>®</sup>) และเดลตัน (Delton<sup>®</sup>) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.01$ ) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในสารเคลือบหลุมร่องฟันสามารถลดการเกิดการสูญเสียแร่ธาตุบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันได้

#### Abstract

The objective of this study was to determine the effects of amorphous calcium phosphate (ACP) containing sealants on demineralization at the enamel/sealant interface.

Extracted third molars were randomly assigned into four groups (n = 10): 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> groups were sealed with Aegis® (ACP containing sealant), 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> groups were sealed with Delton® (non-ACP containing sealant). The control groups were immersed in deionized water for 4 days. The enamel mineral loss was evaluated by Vicker's microhardness. The results showed that Aegis® sealed specimens were statistically significant different from Delton® sealed specimens (p=0.01). This study demonstrated that ACP containing sealant significantly decreased demineralization at the enamel/sealant interface

**คำสำคัญ:** วัสดุเคลือบหลุมร่องฟัน การสูญเสียแร่ธาตุ ความแข็งผิวระดับจุลภาค

**Keywords:** dental sealants, demineralization, micro hardness

## 1. บทนำ

จากการสำรวจสภาวะทันตสุขภาพของประชาชนไทยในระดับประเทศครั้งที่ 6 (พ.ศ. 2549-2550) พบว่าในเด็กอายุ 3 ปี ซึ่งเป็นช่วงที่ฟันน้ำนมขึ้นครบ 20 ซี่ มีฟันผุร้อยละ 61.37 โดยมีค่าเฉลี่ยฟันผุ ถอน อุด (dmft) 3.21 ซึ่งต่อคน ส่วนเด็กอายุ 5 ปี พบฟันน้ำนมผุร้อยละ 80.64 โดยมีค่าเฉลี่ยฟันผุ ถอน อุด 5.43 ซึ่งต่อคน ฟันที่ผุมากที่สุดคือฟันกรามถาวรซี่ที่ 1 และ 2 (1) เนื่องจากบริเวณด้านบดเคี้ยวของฟันกรามถาวรซี่ที่ 1 และ 2 มีหลุมและร่องซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีการสะสมของเศษอาหารและแผ่นคราบจุลินทรีย์ได้ง่าย อีกทั้งยังมีลักษณะแคบและลึก ซึ่งขนแปรงสีฟันไม่สามารถเข้าไปทำความสะอาดได้ ด้วยเหตุดังกล่าวจึงมีการใช้วัสดุเคลือบหลุมร่องฟัน (pit and fissure sealant) เพื่อลดรอยโรคบริเวณด้านบดเคี้ยว โดยสารเคลือบหลุมร่องฟันจะทำหน้าที่เป็นสิ่งกีดขวางทางกายภาพจะช่วยลดโอกาสที่ฟันสัมผัสกับปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคฟันผุ ได้แก่ แบคทีเรียและอาหาร (2) อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของสารเคลือบหลุมร่องฟันจะลดลงตามระยะเวลาการใช้งานเนื่องมาจากการหลุดของวัสดุบางส่วนหรือทั้งหมดนอกจากนี้ในหลายการศึกษายังพบว่ามีการเกิดโรคฟันผุบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันได้ จากการศึกษาพบว่าวัสดุเคลือบหลุมร่องฟันที่ยังคงติดอยู่บน

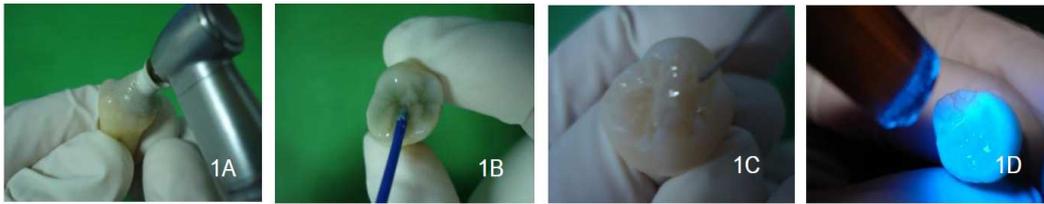
หลุมร่องฟันมีขนาดความกว้างของช่องว่างระหว่างผิวเคลือบฟันกับวัสดุเคลือบหลุมร่องฟันประมาณ 2-23 (3-6) ซึ่งส่งผลให้มีการแทรกซึมของเชื้อแบคทีเรียและสารต่างๆจากสิ่งแวดล้อมภายในช่องปากเข้าสู่หลุมร่องฟันทำให้เกิดการผุ (7) นอกจากนั้นแล้วการพบฟันผุภายใต้วัสดุเคลือบหลุมร่องฟัน อาจมีสาเหตุมาจากการทาสารเคลือบหลุมร่องฟันทับบนรอยโรคสีขาวขุ่นที่มีอยู่เดิม เนื่องมาจากการวินิจฉัยรอยโรคในระยะเริ่มแรกของการสูญเสียแร่ธาตุทำได้ยาก (8-9) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาคุณสมบัติของสารเคลือบหลุมร่องฟันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคฟันผุและการซ่อมแซมรอยผุในระยะเริ่มแรก ยกตัวอย่างเช่น การเติมฟลูออไรด์ลงในสารเคลือบหลุมร่องฟัน หรือการนำเอาอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตมาผสมในวัสดุเคลือบหลุมร่องฟันโดยที่อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตมีคุณสมบัติปลดปล่อยแคลเซียมและฟอสเฟตออกสู่สภาพแวดล้อมในช่องปากอย่างช้าๆ แร่ธาตุแคลเซียมและฟอสเฟตเป็นแร่ธาตุพื้นฐานซึ่งสามารถช่วยให้เกิดกระบวนการสะสมแร่ธาตุกลับคืนเข้าสู่ผิวฟันเป็นการส่งเสริมกระบวนการซ่อมแซมตามธรรมชาติของผิวเคลือบ จากผลการศึกษาการคงอยู่และประสิทธิภาพในการป้องกันโรคฟันผุของวัสดุเคลือบหลุมร่องฟันในนาวิกโยธินของกองทัพเรือสหรัฐอเมริกา พบว่าผู้ที่มิ

ความเสี่ยงในการเกิดโรคฟันผุในระดับปานกลาง หรือระดับสูงมีอัตราความล้มเหลวของการเคลือบ หลุมร่องฟันสูงกว่าผู้ที่มีความเสี่ยงในการเกิดโรค ฟันผุในระดับต่ำ (8) ในปัจจุบันมีความพยายามที่จะเพิ่มคุณสมบัติทางกายภาพให้กับเรซินคอมโพสิตที่มีอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตเป็นส่วนประกอบ (10-11) โดยพบว่าเรซินคอมโพสิตที่มีการปรับปรุงอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตยังสามารถให้แคลเซียมและฟอสเฟตไอออนในระดับที่สามารถเกิดการสะสมแร่ธาตุกลับคืนได้ (12) จากคุณสมบัติดังกล่าวน่าจะมีผลในการช่วยลดการเกิดการสูญเสียแร่ธาตุ และส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุที่บริเวณผิวเคลือบฟันที่มีการเคลือบด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันที่มีส่วนผสมของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาบทบาทของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในสารเคลือบหลุมร่องฟันต่อการสูญเสียแร่ธาตุบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันในห้องปฏิบัติการ

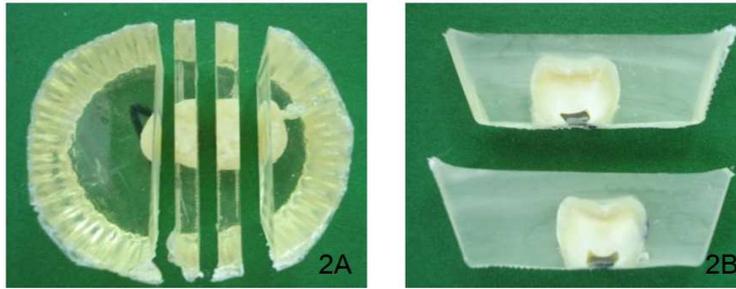
## 2. วิธีการวิจัย

ทำการเตรียมชิ้นงานตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิจัยจากการคัดเลือกฟันกรามแท้ซี่ที่สามเพื่อนำมาเคลือบด้วยวัสดุเคลือบหลุมร่องฟันดังวิธีการที่แสดงในรูปที่ 1A-1D โดยการนำฟันมาทำความสะอาดโดยเฉพาะที่ด้านบดเคี้ยวเพื่อกำจัดคราบจุลินทรีย์ที่ติดอยู่ และขัดฟันด้วยผงขัดฟัมมีสร่วมกับหัวขัดยางรูปถ้วยด้วยหัวกรอความเร็วต่ำดังแสดงในรูปที่ 1A แล้วล้างด้วยน้ำและเป่าให้แห้ง จากนั้นใช้เครื่องมือตรวจโรคฟันผุเช็ตามหลุมร่องฟัน และทำการทากรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 35 ตามหลุมร่องฟันทางด้านบดเคี้ยวเป็นเวลา 15 วินาที แล้วทำการล้างน้ำและเป่าแห้งอีกครั้งดังรูปที่ 1B เพื่อทำการปรับสภาพผิวเคลือบฟันเป่าฟันให้แห้งจนผิวเคลือบฟันมีลักษณะขุ่นขาว จากนั้นแบ่งฟันออกเป็น 2 กลุ่มย่อยด้วยวิธีการสุ่มอย่างง่าย กลุ่มละ 5 ซี่ แล้วนำไปเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟัน 2 ชนิด โดยฟันใน

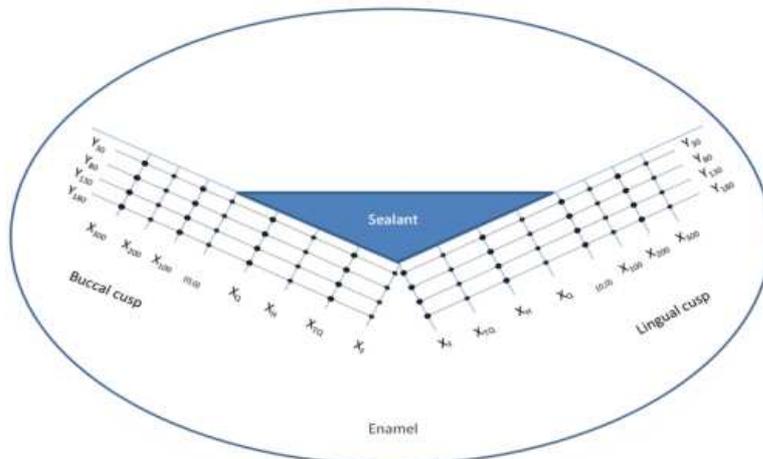
กลุ่มแรกจะทำการสารเคลือบหลุมร่องฟันด้วยวัสดุเคลือบหลุมร่องฟันชนิดเอกิส (Aegis®, Bosworth Co., USA.) ส่วนฟันในอีกกลุ่มหนึ่งจะทำการสารเคลือบหลุมร่องฟันด้วยวัสดุเคลือบหลุมร่องฟันชนิดเดลตัน (Delton®, Dentsply Inc., USA) โดยในการทำการเคลือบหลุมร่องฟันจะต้องใช้เครื่องมือตรวจโรคฟันผุทำการเกลี่ยวัสดุให้ทั่วกันดังแสดงในรูปที่ 1C แล้วจึงทำการฉายแสงเพื่อทำให้วัสดุแข็งตัวด้วยปฏิกิริยาโพสิเมอร์ไรเซชันดังแสดงในรูปที่ 1D แล้วนำฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันแล้วไปแช่ในน้ำลายเทียมเป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (13) จากนั้นนำฟันมายึดในเบ้าพลาสติกด้วยการใช้เรซินที่มีการบ่มตัวด้วยตัวเอง เพื่อช่วยในการยึดฟันในเบ้า นำฟันมาทำการตัดฟันด้วยเครื่องตัดฟัน โดยเริ่มตัดแบ่งตัวฟันและรากฟันออกจากกันที่ตำแหน่งรอยต่อของเคลือบฟันและเคลือบรากฟัน (cemento-enamel junction) แล้วทำการอุดปิดบริเวณโพรงประสาทฟันด้วยเรซินชนิดบ่มตัวด้วยตัวเอง แล้วจึงเริ่มทำการตัดฟันที่กึ่งกลางตัวฟันในแนวใกล้แก้ม-ใกล้ลิ้น ระหว่างหลุมฟันใกล้กลางและหลุมฟันไกลกลางเป็นแนวตัดแนวแรก จากนั้นจะทำการตัดห่างจากรอยตัดแรกไปทางหลุมฟันด้านใกล้กลางและหลุมฟันไกลกลางข้างละ 3.5 มิลลิเมตร ดังนั้นฟันหนึ่งซี่สามารถเตรียมชิ้นงานตัวอย่างที่อยู่ในชิ้นเบ้าพลาสติกทั้งหมด 2 ซี่ที่มีความหนา 3.5 มิลลิเมตรดังแสดงในรูปที่ 2A ซึ่งแต่ละซี่ประกอบด้วย 2 ด้านที่จะใช้ในการทดสอบดังแสดงในรูปที่ 2B นำชิ้นฟันตัวอย่างไปขัดด้วยแผ่นซิลิกอนคาร์ไบด์ เรียงลำดับความละเอียดตามเบอร์จาก 400, 600 และ 1,200 และขัดละเอียดขั้นสุดท้ายด้วยผงขัดเพชรขนาด 1 ไมโครเมตร ด้วยเครื่องขัดผิววัสดุ จากนั้นทำการเคลือบบริเวณผิวเคลือบฟันที่ห่างจากขอบของสารเคลือบหลุมร่องฟัน 2 มิลลิเมตรและบริเวณเนื้อฟันด้วยน้ำยาเคลือบเล็บแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง กำหนดจุดทดสอบความแข็งผิวบนผิวเคลือบฟัน จำนวน 64



รูปที่ 1. การเคลือบฟันที่จะนำไปเตรียมชั้นตัวอย่างด้วยวัสดุเคลือบหลุมร่องฟัน ซึ่งในรูป 1A แสดงการขัดฟันด้วยผงขัดที่มี สด้วยหัวกรอความเร็วต่ำ ในรูป 1 B แสดงการทากรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 35 ตามหลุมร่องฟันทางด้านบนคเดียว ใน รูป 1C แสดงการเคลือบวัสดุด้วยเครื่องมือตรวจโรคฟันผุ และในรูป 1D แสดงการฉายแสงด้วยเครื่องฉายแสง



รูปที่ 2. ชั้นตัวอย่างจากการตัดฟันด้วยเครื่องตัดฟันหนึ่งซึ่งสามารถเตรียมชั้นฟันตัวอย่างได้ 2 ชั้นดังรูป 2A และแสดงชั้น ตัวอย่างที่ขัดเรียบเรียบร้อยแล้วทั้งสองชั้นและทั้งสองด้านในแต่ละชั้นตัวอย่างดังรูป 2B



- จุดทดสอบก่อนการเคลือบ
- จุดทดสอบหลังการเคลือบ

รูปที่ 3. จุดทดสอบบนชั้นตัวอย่าง

จุดต่อหนึ่งชั้นตัวอย่าง ซึ่งจุดทดสอบความแข็งผิว จะอยู่บนปุ่มฟันพื้นด้านใกล้แก้มและใกล้ลิ้นด้าน ละ 32 จุด โดยกำหนดให้รอยต่อระหว่างวัสดุ เคลือบหลุมร่องฟันกับผิวเคลือบฟันเป็นจุดเริ่มต้น

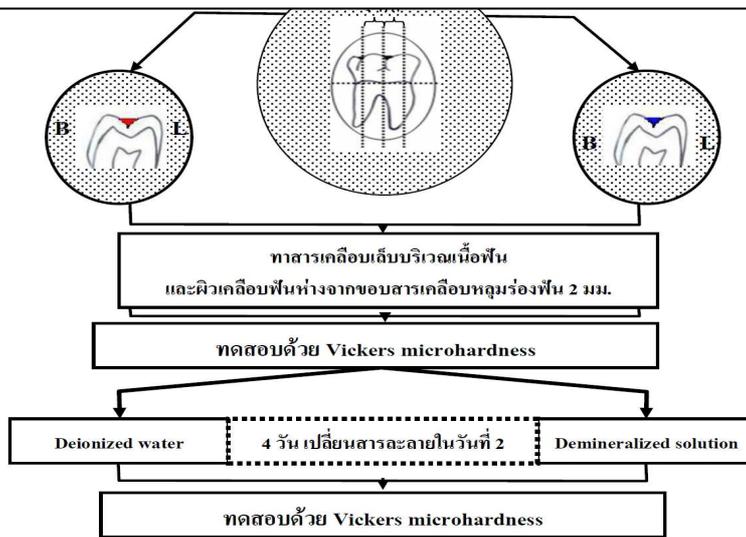
(0.0) และแนวแกนนอนที่เป็นแนวรอยต่อระหว่าง ผิวเคลือบฟันกับวัสดุเคลือบหลุมร่องฟันมา ทางด้านในของแนวสัมผัสของวัสดุกับเคลือบฟัน และห่างจากจุดเริ่มต้นเป็นระยะหนึ่งโนสี้ ครั้งหนึ่ง

สองในสาม และทั้งระยะสัมผัสของระยะระหว่าง วัสดุกับผิวเคลือบฟันจะกำหนดระยะเป็น  $+X_Q$ ,  $+X_H$ ,  $+X_{TQ}$  และ  $+X_F$  ตามลำดับ ส่วนในแนวแกน นอนที่อยู่มาทางด้านนอกของแนวรอยต่อระหว่าง ผิวเคลือบฟันกับวัสดุเคลือบหลุมร่องฟัน ห่างจาก จุดเริ่มต้นเป็นระยะ 100, 200 และ 300 ไมครอน จะกำหนดระยะเป็น  $X_{100\mu}$ ,  $X_{200\mu}$ ,  $X_{300\mu}$  และ  $X_{400\mu}$  ตามลำดับ จุดทดสอบจะอยู่ในแนวที่ห่างจากแนว รอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันมาทางด้านใน ของผิวเคลือบฟัน 3 แนวที่ระดับ 30 50 และ 80 ไมโครเมตรรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟัน ซึ่ง กำหนดให้เป็นแนว  $Y_{30}$ ,  $Y_{50}$ ,  $Y_{80}$  และ  $Y_{180}$  ตามลำดับ ดังรูปที่ 3 จากนั้นนำขึ้นตัวอย่างที่ได้รับการ เคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่อง ฟันทั้ง 2 ชนิด ไปวัดความแข็งของผิวเคลือบฟัน ด้วยเครื่องวัดความแข็งผิวระดับจุลภาคโดยใช้หัว กดวิกเกอร์ น้ำหนัก 50 กรัม เป็นเวลา 10 วินาที ทำ การวัด 32 จุด ต่อหนึ่งขึ้นตัวอย่าง ซึ่ง 16 จุดอยู่บน ปุ่มพื้นด้านใกล้แก้มโดยวัดจุด ได้แก่จุด  $X_{300\mu}Y_{30}$ ,  $X_{300\mu}Y_{80}$ ,  $X_{300\mu}Y_{130}$ ,  $X_{300\mu}Y_{180}$ ,  $X_{100\mu}Y_{30}$ ,  $X_{100\mu}Y_{80}$ ,  $X_{100\mu}Y_{130}$ ,  $X_{100\mu}Y_{180}$ ,  $X_QY_{30}$ ,  $X_QY_{80}$ ,  $X_QY_{130}$ ,  $X_QY_{180}$ ,  $X_{TQ}Y_{30}$ ,  $X_{TQ}Y_{80}$ ,  $X_{TQ}Y_{130}$  และ  $X_{TQ}Y_{180}$  ตามลำดับ และอีก 16 ที่จุดอยู่บนปุ่มพื้นด้านไกล แก้มโดยวัดจุด  $X_{200\mu}Y_{30}$ ,  $X_{200\mu}Y_{80}$ ,  $X_{200\mu}Y_{130}$ ,  $X_{200\mu}Y_{180}$ ,  $X_{0\mu}Y_{30}$ ,  $X_{0\mu}Y_{80}$ ,  $X_{0\mu}Y_{130}$ ,  $X_{0\mu}Y_{180}$ ,  $X_HY_{30}$ ,  $X_HY_{80}$ ,  $X_HY_{130}$ ,  $X_HY_{180}$ ,  $X_FY_{30}$ ,  $X_FY_{80}$ ,  $X_FY_{130}$  และ  $X_FY_{180}$  ตามลำดับ ซึ่งตำแหน่งกวดแสดงให้ เห็นเป็นรูปกลม (dot head) ดังแสดงในรูปที่ 3 จากนั้นทำการแบ่งกลุ่มขึ้นตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม ออกเป็น 2 กลุ่มย่อยด้วยวิธีการสุ่มอย่างง่ายอัน ประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยขึ้นตัวอย่างที่ ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสาร ชนิดเอกิส 10 ขึ้นตัวอย่าง ซึ่งขึ้นตัวอย่างจะถูกนำไปแช่น้ำ ปราศจากไอออนเป็นเวลา 4 วันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเปลี่ยนน้ำปราศจากไอออนใน

วันต่อมา กลุ่มที่ 2 ร่องฟันด้วยสารชนิดเอกิส 10 ขึ้นตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยขึ้นตัวอย่างที่ได้รับการ เคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกิส 10 ขึ้นตัวอย่าง ซึ่งขึ้นตัวอย่างจะถูกนำไปแช่น้ำ ปราศจากไอออนเป็นเวลา 4 วันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเปลี่ยน สารละลายในวันต่อมา กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยขึ้น ตัวอย่างที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสาร ชนิดเคลตัน 10 ขึ้นตัวอย่าง ซึ่งขึ้นตัวอย่างจะถูก นำไปแช่น้ำปราศจากไอออนเป็นเวลา 4 วันที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเปลี่ยนน้ำ ปราศจากไอออนในวันต่อมา ส่วนในกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยขึ้นตัวอย่างที่ได้รับการเคลือบหลุม ร่องฟันด้วยสารชนิดเคลตัน จำนวน 10 ขึ้นตัวอย่าง และขึ้นตัวอย่างจะถูกนำไปแช่น้ำปราศจากไอออนเป็นเวลา 4 วันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเปลี่ยนสารละลายในวัน ต่อมา เมื่อทำการทดลองครบตามวิธีการดังกล่าว ทั้ง 4 กลุ่มแล้วจะนำขึ้นตัวอย่างออกจาก สารละลาย แล้วนำขึ้นตัวอย่างล้างด้วยน้ำปราศจาก ไอออนแล้วซับด้วยกระดาษซับเป็นเวลา 30 วินาที และทิ้งไว้เป็นเวลา 30 วินาที นำขึ้นตัวอย่างแต่ละ กลุ่มมาวัดความแข็งผิวระดับจุลภาคด้วยเครื่องวัด ความแข็งผิวระดับจุลภาคโดยใช้หัวกดวิกเกอร์ น้ำหนัก 50กรัม เป็นกคนานเป็นเวลา 10 วินาที โดยจะทำการวัด 32 จุดต่อหนึ่งด้านของขึ้น ตัวอย่าง ซึ่ง 16 จุดอยู่บนปุ่มพื้นด้านใกล้แก้มอัน ได้แก่จุด  $X_{200\mu}Y_{30}$ ,  $X_{200\mu}Y_{80}$ ,  $X_{200\mu}Y_{130}$ ,  $X_{200\mu}Y_{180}$ ,  $X_{0\mu}Y_{30}$ ,  $X_{0\mu}Y_{80}$ ,  $X_{0\mu}Y_{130}$ ,  $X_{0\mu}Y_{180}$ ,  $X_HY_{30}$ ,  $X_HY_{80}$ ,  $X_HY_{130}$ ,  $X_HY_{180}$ ,  $X_FY_{30}$ ,  $X_FY_{80}$ ,  $X_FY_{130}$  และ  $X_FY_{180}$  ตามลำดับ และอีก 16 จุดอยู่บนปุ่มพื้นด้าน ไกลแก้มอัน ได้แก่จุด  $X_{300\mu}Y_{30}$ ,  $X_{300\mu}Y_{80}$ ,  $X_{300\mu}Y_{130}$ ,  $X_{300\mu}Y_{180}$ ,  $X_{100\mu}Y_{30}$ ,  $X_{100\mu}Y_{80}$ ,  $X_{100\mu}Y_{130}$ ,  $X_{100\mu}Y_{180}$ ,  $X_QY_{30}$ ,  $X_QY_{80}$ ,  $X_QY_{130}$ ,  $X_QY_{180}$ ,  $X_{TQ}Y_{30}$ ,  $X_{TQ}Y_{80}$ ,  $X_{TQ}Y_{130}$  และ  $X_{TQ}Y_{180}$  ตามลำดับซึ่งตำแหน่ง กวดแสดงให้เห็น

ตารางที่ 2. ความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 80 ไมโครเมตร

<p>Table content is missing from the image.</p>
---



รูปที่ 4. ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

**3. ผลการวิจัย**

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for window version 13.0 การทดสอบทางสถิติทั้งหมดเป็นการทดสอบแบบสองทางที่  $\alpha = 0.05$  ตรวจสอบการกระจายของข้อมูลโดยใช้ Shapiro-Wilk เนื่องจากจำนวนชิ้นตัวอย่างในแต่ละกลุ่มน้อยกว่า 50 ชิ้น และทดสอบความเป็นเอกพันธ์ของความแปรปรวน โดยใช้สถิติเลเวนเน (Levene statistic) การเปรียบเทียบผลต่างค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟัน ก่อนและหลัง

ผ่านกระบวนการทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกิสและสารชนิดเคลตัน ทดสอบโดยใช้สถิติ Independent T test

ผลการทดสอบความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 30 ไมโครเมตรของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกิส และสารชนิดเคลตันที่แช่ในน้ำปราศจากไอออนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แต่ผลการทดสอบ

ตารางที่ 1. ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 30 ไมโครเมตร

กลุ่ม(n=10)	ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนกลุ่มเบี่ยงเบนมาตรฐาน)			
	น้ำปราศจากไอออน		สารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ	
	กลุ่มที่ 1 Aegis®	กลุ่มที่ 3 Delton®	กลุ่มที่ 2 Aegis®	กลุ่มที่ 4 Delton®
ก่อนการทดลอง	191.59±6.80	178.11±9.01	194.90±8.67	172.26±32.26
หลังการทดลอง	192.19±4.98	178.50±8.98	90.73±1.88	36.69±2.92
ผลต่างก่อน-หลัง	-0.60±5.19	-0.39±2.96	104.17±8.85	135.57±30.24
<b>P-value</b>	p=0.911		p=0.01	

\*P-value = ความแตกต่างของผลต่างก่อนและหลังการทดลองระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ Independent T Test

ตารางที่ 2. ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 80 ไมโครเมตร

กลุ่ม(n=10)	ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนกลุ่มเบี่ยงเบนมาตรฐาน)			
	น้ำปราศจากไอออน		สารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ	
	กลุ่มที่ 1 Aegis®	กลุ่มที่ 3 Delton®	กลุ่มที่ 2 Aegis®	กลุ่มที่ 4 Delton®
ก่อนการทดลอง	191.59±6.80	178.11±9.01	194.90±8.67	172.26±32.26
หลังการทดลอง	192.19±4.98	178.50±8.98	90.73±1.88	36.69±2.92
ผลต่างก่อน-หลัง	-0.60±5.19	-0.39±2.96	104.17±8.85	135.57±30.24
<b>P-value</b>	p=0.911		p=0.01	

\*P-value = ความแตกต่างของผลต่างก่อนและหลังการทดลองระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ Independent T Test

ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 30 ไมโครเมตร ของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกซิส และสารชนิดเคลตัน ที่แช่ในสารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองของความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันแสดงในตารางที่ 1

ผลการทดสอบความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิว

เคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 80 ไมโครเมตร ของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกซิส และสารชนิดเคลตัน ที่แช่ในน้ำปราศจากไอออนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และผลการทดสอบความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 80 ไมโครเมตร ของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกซิส และสารชนิดเคลตัน ที่แช่ในสารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ค่าเฉลี่ยก่อนและหลัง

ตารางที่ 3. ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 130 ไมโครเมตร

กลุ่ม(n=10)	ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนกลุ่มเบี่ยงเบนมาตรฐาน)			
	น้ำปราศจากไอออน		สารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ	
	กลุ่มที่ 1 Aegis®	กลุ่มที่ 3 Delton®	กลุ่มที่ 2 Aegis®	กลุ่มที่ 4 Delton®
ก่อนการทดลอง	195.04 ± 9.33	180.14 ± 8.72	193.94 ± 8.39	187.77 ± 14.17
หลังการทดลอง	194.75 ± 4.66	179.90 ± 7.73	37.49 ± 1.53	36.35 ± 3.83
ผลต่างก่อน-หลัง	0.30 ± 5.80	0.23 ± 5.19	156.45 ± 8.76	138.04 ± 31.55
<b>P-value</b>	p=0.979 <sup>a</sup>		p=0.143 <sup>b</sup>	

\*P-value = ความแตกต่างของผลต่างก่อนและหลังการทดลองระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ a = Independent T Test, b = Mann Whitney U Test

ตารางที่ 4. ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 180 ไมโครเมตร

กลุ่ม(n=10)	ความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนกลุ่มเบี่ยงเบนมาตรฐาน)			
	น้ำปราศจากไอออน		สารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ	
	กลุ่มที่ 1 Aegis®	กลุ่มที่ 3 Delton®	กลุ่มที่ 2 Aegis®	กลุ่มที่ 4 Delton®
ก่อนการทดลอง	195.35 ± 11.07	179.23 ± 7.04	194.64 ± 9.80	170.02 ± 35.83
หลังการทดลอง	195.97 ± 5.39	181.81 ± 7.46	37.09 ± 1.84	36.40 ± 3.98
ผลต่างก่อน-หลัง	-0.62 ± 8.39	-2.58 ± 4.89	157.55 ± 9.96	133.62 ± 32.51
<b>P-value</b>	p=0.532 <sup>a</sup>		p=0.052 <sup>b</sup>	

\*P-value = ความแตกต่างของผลต่างก่อนและหลังการทดลองระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ a = Independent T Test, b = Mann Whitney U Test

การทดลองของความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันแสดงในตารางที่ 2

ผลการทดสอบความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 130 ไมโครเมตร ของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกิสและสารชนิดเคลตัน ที่แช่ในน้ำปราศจากไอออนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) และผลการทดสอบความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 130 ไมโครเมตร ของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกิส

และสารชนิดเคลตัน ที่แช่ในสารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองของความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันแสดงในตารางที่ 3

ผลการทดสอบความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 180 ไมโครเมตร ของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกิส และสารชนิดเคลตัน ที่แช่ในน้ำปราศจากไอออนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) และผลการทดสอบความแข็งแรงระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณ

รอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันที่ห่างจากขอบเคลือบฟันเป็นระยะ 180 ไมโครเมตร ของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารชนิดเอกซิสและสารชนิดเคลตันที่แช่ในสารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองของความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันแสดงในตารางที่ 4

#### 4. สรุปและอภิปราย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาบทบาทของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในสารเคลือบหลุมร่องฟันต่อการสูญเสียแร่ธาตุบริเวณรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟัน โดยใช้การประเมินผลด้วยการวัดความแข็งผิวระดับจุลภาคแบบวิกเกอร์ แม้จะเป็นการวัดการสูญเสียแร่ธาตุทางอ้อม แต่ก็มีข้อดีคือเป็นวิธีที่ทำได้ไม่ยากนัก สามารถทำซ้ำได้ และไม่ทำลายชิ้นงานตัวอย่าง แต่ก็มีข้อด้อย คือ ไม่สามารถบ่งบอกปริมาณการสูญเสียแร่ธาตุได้ที่แท้จริงได้ จากผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยผลต่างความแข็งผิวระดับจุลภาคบริเวณที่ห่างจากรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันที่ระยะ 30, 80, 130 และ 180 ไมโครเมตร ในกลุ่มควบคุมซึ่งแช่ในน้ำปราศจากไอออนของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันที่มีส่วนผสมของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตชนิดเอกซิส และฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันที่ไม่มีส่วนผสมของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตชนิดเคลตันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ในทุกระยะห่างจากรอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟัน

ผลการศึกษาในกลุ่มทดลองซึ่งแช่ในสารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ พบว่าที่ระยะห่าง 30 ไมโครเมตรมีค่าเฉลี่ยผลต่างความแข็งผิวระดับจุลภาคของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันชนิดเอกซิสมีค่าเท่ากับ  $104.17 \pm 8.85$  และเคลตันมีค่าเท่ากับ

$135.57 \pm 30.24$  ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.01$ ) ในขณะที่ระยะห่าง 80, 130 และ 180 ไมโครเมตร มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากการปลดปล่อยแคลเซียมและฟอสเฟตจากสารเคลือบหลุมร่องฟันที่มีส่วนผสมของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในระหว่างที่มีการสังเคราะห์ผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์จากการทำปฏิกิริยาของแคลเซียมและฟอสเฟตในสภาวะที่เป็นกลางหรือเป็นด่าง ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต พบว่าในสภาวะที่มีความอิ่มตัวอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตจะไม่มี การแตกตัว และอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตที่เกิดขึ้นจะมีความแตกต่างกันของโครงสร้างและการละลายตัวขึ้นอยู่กับสภาวะความเป็นกรดต่างอัตราส่วนระหว่างแคลเซียมและฟอสเฟตรวมถึงอุณหภูมิขณะเกิดปฏิกิริยา (14) ในการศึกษานี้ได้ทำการแช่ชิ้นตัวอย่างในสารละลายที่ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุที่มีค่าความเป็นกรดต่างที่พีเอชเท่ากับ 4.8 ซึ่งเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรดต่างที่ต่ำกว่าพีเอช 6.5 พบว่าปฏิกิริยาที่โดดเด่นคือมีการตกผลึกของไดแคลเซียมฟอสเฟตไดไฮเดรต (dicalcium phosphate dihydrate) จากการศึกษาของ Feenstra และ de Bruyn (15) พบว่าออกตะแคลเซียมฟอสเฟตเป็นตัวกลางในการเปลี่ยนแปลงอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตไปเป็นไฮดรอกซีอะพาไทต์ ดังนั้นอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตสามารถทำหน้าที่เป็นแม่แบบในการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์

การที่อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในสารเคลือบหลุมร่องฟันสามารถลดการเกิดการสูญเสียแร่ธาตุที่ระดับ 30 ไมโครเมตร อาจเนื่องมาจากผลของกรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 35 ที่ทาบนผิวเคลือบฟันในขั้นตอนการเคลือบหลุมร่องฟันสามารถทำให้เกิดสายเรซิน (resin tag) ลงไปในเคลือบฟันได้ความยาวประมาณ 22 ไมโครเมตร (16) ประกอบกับอนุภาคของอะมอร์ฟัส

แคลเซียมฟอสเฟตมีขนาด 5 นาโนเมตร (17) ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าช่องว่างระหว่างผลึก (interprismatic space) ที่มีขนาด 0.4 ไมโครเมตร (18) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่อนุภาคของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตจะสามารถแพร่ลงไปในช่องว่างระหว่างผลึกได้ จึงส่งผลให้ลดการสูญเสียแร่ธาตุที่ระยะห่างจากความยาวของสายเรซินได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Oshiro และคณะ (19) ในปี ค.ศ. 2007 ที่ศึกษาผลของซีพีพี-เอซีพีที่เคลือบฟันพบว่าเคลือบฟันที่ได้รับซีพีพี-เอซีพีมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นผิวเพียงเล็กน้อยแม้ถูกแช่ในสารละลายที่ก่อให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุเป็นเวลา 28 วัน และ Mazzaoui และคณะ (20) ในปี ค.ศ. 2003 ศึกษาผลของการเติมซีพีพี-เอซีพีในกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์พบว่าสามารถปลดปล่อยแคลเซียม ฟอสเฟต และฟลูออไรด์ไอออนในสถานะที่มีค่าความเป็นกรดต่างเป็นกลางและเป็นกรดได้ และสามารถป้องกันการสูญเสียแร่ธาตุในขณะที่เนื้อฟันสัมผัสกับสารละลายกรดได้ ซึ่งเป็นการสนับสนุนถึงประสิทธิภาพของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในการป้องกันการเกิดการสูญเสียแร่ธาตุของเคลือบฟันและเนื้อฟันได้

จากการศึกษาบทบาทของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในสารเคลือบหลุมร่องฟันต่อการสูญเสียแร่ธาตุ โดยใช้การประเมินด้วยการวัดความแข็งผิวระดับจุลภาคแบบวิกเกอร์ พบว่าค่าเฉลี่ยผลต่างความแข็งผิวระดับจุลภาคก่อนและหลังผ่านกระบวนการทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุของฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันที่มีส่วนผสมของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต มีค่าน้อยกว่าฟันที่ได้รับการเคลือบหลุมร่องฟันด้วยสารเคลือบหลุมร่องฟันที่ไม่มีส่วนผสมของอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตในสารเคลือบหลุมร่องฟันสามารถต้านการเกิดการสูญเสียแร่ธาตุบริเวณ

รอยต่อของวัสดุกับผิวเคลือบฟันได้เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการและไม่มีอาการจำลองสภาวะของช่องปากจึงไม่สามารถควบคุมปัจจัยบางอย่างที่แตกต่างจากในสภาวะช่องปากได้ ดังนั้นในอนาคตควรมีการศึกษาทางคลินิกเพื่อให้มีสภาพใกล้เคียงกับความเป็นจริงตามธรรมชาติในช่องปากของมนุษย์เพื่อเป็นการยืนยันถึงคุณสมบัติของสารเคลือบหลุมร่องฟันที่มีส่วนผสมของสารอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการป้องกันการเกิดโรคฟันผุ

##### 5. กิติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

##### 6. เอกสารอ้างอิง

- (1) Dental Health Division, Department of Health, Ministry of Public Health. Report of the national oral health survey, No. 6, Thailand 2002-2007. Full report. Bangkok (Thailand): 2008. Thai.
- (2) Knobloch LA, Meyer T, Kerby RE, Johnston W. Microleakage and bond strength of sealant to primary enamel comparing air abrasion and acid etch techniques. *Pediatr Dent.* 2005; 27(6): 463-9.
- (3) Weerheijm KL, de Soet JJ, van Amerongen WE, de Graaff J. The effect of glass-ionomer cement on carious dentine: An in vivo study. *Caries Res.* 1993; 27(5): 417-23.
- (4) Vlineet D, Tandon S. Comparative evaluation of marginal integrity of two new fissure sealants using invasive and non-invasive techniques: A SEM study. *J Clin Pediatr Dent.* 2000; 2: 291-7.

- (5) Hebling J, Feigal RJ. Use of one-bottle adhesive as an intermediate bonding layer to reduce sealant microleakage on saliva-contaminated enamel. *Am J Dent*. 2000; 13(4): 187-91.
- (6) Stavridakis MM, Favez V, Campos EA, Krejci I. Marginal integrity of pit and fissure sealants: Qualitative and quantitative evaluation of the marginal adaptation before and after in vitro thermal and mechanical stressing. *Oper Dent*. 2003; 28(4): 403-14.
- (7) Charbeneau GT, Dennison JB. Clinical success and potential failure after single application of a pit and fissure sealant: a four-year report. *J Am Dent Assoc*. 1979; 98(4): 559-64.
- (8) Simecek JW, Diefenderfer KE, Ahlf RL, Ragain JC. Dental sealant longevity in a cohort of young US naval personnel. *J Am Dent Assoc*. 2005;136: 171-8.
- (9) Kidd EA, Ricketts DN, Pitts NB. Occlusal caries diagnosis: A changing challenge for clinicians and epidemiologists. *J Dent*. 1993;21: 323-31.
- (10) Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED. Improved properties of amorphous calcium phosphate fillers in remineralizing resin composites. *Dent Mater*. 1996; 12(5): 295-301.
- (11) Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED, Eidelman N. Dental composites based on hybrid and surface-modified amorphous calcium phosphates. *Biomaterials*. 2004; 25(7-8): 1141-50.
- (12) Park MS, Eanes ED, Antonucci JM, Skrtic D. Mechanical properties of bioactive amorphous calcium phosphate/methacrylate composites. *Dent Mater*. 1998; 14(2): 137-41.
- (13) Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED. Effect of the monomer and filler system on the remineralizing potential of bioactive dental composite base on amorphous calcium phosphate. *Polym Advan Technol*. 2001; 12: 369-79.
- (14) Wang L, Nanchollas G. Calcium orthophosphates: Crystallization and dissolution. *Chem Rev*. 2008; 108: 4628-69.
- (15) Feenstra T, De Bruyn P. Formation of calcium phosphates in moderately supersaturated solutions. *J Phys Chem*. 1979;83: 475-9.
- (16) Shinchi M, Soma K, Nakabayashi N. The effect of phosphoric acid concentration on resin tag length and bond strength of a photo-cured resin to acid-etched enamel. *Dent Mater*. 2000; 16: 324-9.
- (17) Tao J, Pan H, Zeng Y, Xu X, Tang R. Roles of amorphous calcium phosphate and biological additives in the assembly of hydroxyapatite nanoparticles. *J Phys Chem*. 2007; 111: 13410-8.
- (18) Habelitz S, Marshall SJ, Marshall Jr. GW, Balooch M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale. *Arch Oral Biol*. 2001; 46(2): 173-81.
- (19) Oshiro M, Yamaguchi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa A, et al. Effect of CPP-ACP paste on tooth

mineralization: An FE-SEM study. J Oral Sci. 2007; 49(2): 115-20.

- (20) Mazzaoui S, Burrow M, Tyas M, Dashper S, Eakins D, Reynolds E. Incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass-ionomer cement. J Dent Res. 2003; 82: 914-8.