

## BOND STRENGTH OF UNIVERSAL ADHESIVE TO ARTIFICIAL DENTINAL CARIES: EFFECT OF THERMOCYCLING

Sirivisa CHITAMARA<sup>1</sup>, Chantida PAWAPUTANON NA MAHASARAKAM<sup>2</sup>, Kunwara THARIYA<sup>2</sup>,

Panupong JIRADECHCHAI<sup>2</sup> and Ajchareeya PIYASANTI<sup>3</sup>

1 Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Thailand; sirivisa.ch@kkumail.com (Corresponding Author)

2 Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Thailand

3 Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Thailand; ajchpi@kku.ac.th

### ARTICLE HISTORY

**Received:** 2 June 2023

**Revised:** 21 June 2023

**Published:** 3 July 2023

### ABSTRACT

Carious dentin has changes in its structural and physical properties which may affect adhesion of restorative material on dentin. Therefore, the purpose of this study was to investigate micro-tensile bond strength of universal adhesive to artificial dentinal caries and to analyze the mineral content at the interface between adhesive layer and carious dentin. Human third molars were used to generate caries-affected dentin using *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*, then restored sound dentin and caries-affected dentin with resin composite combined with universal adhesive in etch-and-rinse mode and performed thermocycling for 10,000 cycles. After 10,000 cycles of thermocycling, the specimens were tested for micro-tensile bond strength and mode of failure, and elemental analysis was determined using linear scanning method for both before and after thermocycling. The results showed significantly lower micro-tensile bond strength of the caries-affected dentin group ( $23.63 \pm 2.61$ ,  $11.21 \pm 2.53$ ) than sound dentin group ( $34.15 \pm 2.90$ ,  $25.67 \pm 9.41$ ) both before and after thermocycling. It was also found that thermocycling resulted in a statistically significant decrease in micro-tensile bond strength of sound and caries-affected dentin. In addition, loss of calcium and phosphorus content of caries-affected dentin compared to sound dentin corresponding to fracture pattern of the specimen after micro-tensile bond strength test which show more cohesive failure in dentin in the caries-affected dentin group both before and after thermocycling. It was concluded from this study that caries-affected dentin decreased the micro-tensile bond strength of universal adhesive to artificial dentinal caries.

**Keywords:** Dental caries, Micro-tensile bond strength, Mineral content analysis

**CITATION INFORMATION:** Chitamara, S., Pawaputanon Na mahasarakam, C., Thariya, K., Jiradechochai, P., & Piyasanti, A. (2023). Bond Strength of Universal Adhesive to Artificial Dentinal Caries: Effect of Thermocycling. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 1(7), 95

## กำลังแรงยึดติดของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันมุจำลอง: ผลระยะยาวของการทำเทอร์โมไซคลิก

สิริวิสาข์ ชิตามระ<sup>1</sup>, จันทรีธิดา ภาณุตานนท์ ฅ มหาสารคาม<sup>2</sup>, กุลวรา ธาริยะ<sup>2</sup>, ภาณุพงษ์ จิเรโตไชชัย<sup>2</sup>  
และ อัจฉริยา ปิยะสันติ<sup>3\*</sup>

1 คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; sirivisa.ch@kkumail.com (ผู้ประพันธ์บรรณกิจ)

2 คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3 คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; ajchpi@kku.ac.th

### บทคัดย่อ

เนื้อฟันมุเป็นเนื้อฟันที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและคุณสมบัติทางกายภาพซึ่งอาจส่งผลการต่อการยึดอยู่ของวัสดุบูรณะบนเนื้อฟันดังกล่าว ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแรงยึดติดระดับจุลภาคของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันมุจำลองด้วยเชื้อก่อโรคทางห้องปฏิบัติการและการวิเคราะห์แร่ธาตุที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นเรซินและเนื้อฟันมุจำลอง โดยใช้พินแกรมแท่งที่สามของมนุษย์มาเหนี่ยวนำให้เกิดฟันมุด้วยเชื้อสเตรปโตค็อกคัส มิวแทนส์และแลคโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลลัส จากนั้นบูรณะชั้นฟันที่มีเนื้อฟันปกติและชั้นฟันมุจากการเหนี่ยวนำด้วยเรซินคอนโพสิตร่วมกับสารยึดติดยูนิเวอร์แซลระบบเอทซ์แอนดรีนส์ และทำการเทอร์โมไซคลิก 10,000 รอบ ชั้นงานดังกล่าวถูกนำมาทดสอบกำลังแรงยึดติดระดับจุลภาค บันทึกลักษณะการแตกหัก และวิเคราะห์แร่ธาตุด้วยวิธีสแกนเชิงเส้นตรงทั้งก่อนและหลังการทำเทอร์โมไซคลิก ผลการศึกษาพบว่าค่าแรงยึดติดระดับจุลภาคของกลุ่มเนื้อฟันมุ ( $23.63 \pm 2.61$ ,  $11.21 \pm 2.53$ ) ต่ำกว่าเนื้อฟันปกติ ( $34.15 \pm 2.90$ ,  $25.67 \pm 9.41$ ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งก่อนและหลังทำเทอร์โมไซคลิก อีกทั้งยังพบว่าการทำเทอร์โมไซคลิกส่งผลให้ค่าแรงยึดติดระดับจุลภาคทั้งชั้นฟันปกติและชั้นฟันมุลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบการสูญเสียของปริมาณแร่ธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสของชั้นฟันมุจากการเหนี่ยวนำเมื่อเปรียบเทียบกับชั้นฟันปกติ สอดคล้องกับรูปแบบการแตกหักของชั้นงานภายหลังการทดสอบกำลังแรงยึดติดระดับจุลภาค ที่พบการแตกหักในชั้นเนื้อฟันมากขึ้นในกลุ่มเนื้อฟันมุทั้งก่อนและหลังเทอร์โมไซคลิก จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า เนื้อฟันมุทำให้ค่าแรงยึดติดระดับจุลภาคของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันมุจำลองด้วยเชื้อก่อโรคทางห้องปฏิบัติการลดลง

**คำสำคัญ:** เนื้อฟันมุ, แรงยึดติดระดับจุลภาค, การวิเคราะห์แร่ธาตุ

**ข้อมูลการอ้างอิง:** สิริวิสาข์ ชิตามระ, จันทรีธิดา ภาณุตานนท์ ฅ มหาสารคาม, กุลวรา ธาริยะ, ภาณุพงษ์ จิเรโตไชชัย และ อัจฉริยา ปิยะสันติ. (2566). กำลังแรงยึดติดของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันมุจำลอง: ผลระยะยาวของการทำเทอร์โมไซคลิก. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 1(7), 95

## บทนำ

การเลือกกำจัดฟันผุถึงเนื้อฟันที่นิ่ม (Selective removal to soft dentin) (Schwendicke et al., 2013, 2018) เป็นวิธีการกำจัดฟันผุในปัจจุบันใช้หลักการบูรณะฟันแบบบอรักรั (Minimal invasive restoration) (Frencken et al., 2012; Holmgren et al., 2013) ที่ทำในกรณีฟันผุลึกที่ผู้ป่วยไม่เคยมีอาการปวด ไม่มีรอยโรคปลายรากจากภาพถ่ายรังสี โดยการรักษากำหนดกำจัดฟันผุโดยรอบออกให้หมดเหลือเพียงฟันผุที่นิ่ม (Soft dentin) ในบริเวณที่ลึกที่สุดที่เสี่ยงต่อการทะลุโพรงประสาทฟันไว้ แล้วบูรณะปิดด้วยวัสดุอุด แต่เนื้อฟันผุมีโครงสร้างและคุณสมบัติทางกายภาพ (mechanical properties) เปลี่ยนแปลงไป โดยเนื้อฟันผุจะสูญเสียแร่ธาตุและสูญเสียโครงสร้างคอลลาเจนระดับทุติยภูมิรวมถึงพบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Beta-tricalcium phosphate;  $\beta$ -TCP) หรือไวท์ลอคไคท์ (Whitlockite) ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่สะสมอยู่ตามเนื้อฟัน นอกจากนี้ยังพบว่าที่บริเวณระหว่างท่อเนื้อฟัน (inter-tubular area) ของเนื้อฟันผุจะมีความชื้น (wetness) มากขึ้น จากการที่น้ำเข้ามาแทนที่แร่ธาตุที่สูญเสียไป ทำให้สัดส่วนของน้ำเพิ่มมากขึ้นคิดเป็นร้อยละ 14-53 ในขณะที่เนื้อฟันปกติมีน้ำเป็นสัดส่วนเพียงร้อยละ 10 (Ito et al., 2005) จากคุณสมบัติของเนื้อฟันผุที่เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้การบูรณะฟันผุด้วยเรซินคอมโพสิต (resin composite) ร่วมกับสารยึดติด (adhesive) ทำได้ยากมากขึ้น เนื่องจากการที่มีแร่ธาตุอุดตันภายในท่อเนื้อฟันส่งผลให้สารยึดติดแทรกซึมลงไปได้ยาก รวมถึงมีน้ำในเนื้อฟันมากขึ้นเป็นตัวขัดขวางส่วนที่ไม่ชอบน้ำของสารยึดติด ทำให้สารยึดติดส่วนไม่ชอบน้ำไม่สามารถแทรกซึมลงไปเนื้อฟันผุได้ เกิดเป็นรูพรุนและทำให้น้ำเข้าไปขังอยู่ในชั้นไฮบริด และเกิดการเสื่อมของชั้นไฮบริดต่อไป (Milia et al., 2012)

มีการศึกษาแรงยึดดึงระดับจุลภาคของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันแท้ผู้จำลองทางเคมี พบว่า ค่าแรงยึดดึง (Micro-tensile bond strength) ของเนื้อฟันผุต่ำกว่าเนื้อฟันปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งระบบเอทซ์แอนดรีนส์ (etch-and-rinse) และระบบเซลฟ์เอทซ์ (self-etch) (Nicoloso et al., 2017) และมีการศึกษาแรงยึดเฉือน (Micro-shear bond strength) ของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันน้ำนมที่ผุ พบว่าค่าแรงเฉือนของเนื้อฟันผุต่ำกว่าเนื้อฟันปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งระบบเอทซ์แอนดรีนส์และระบบเซลฟ์เอทซ์เช่นกัน (Müller et al., 2017) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่พบการศึกษาที่ศึกษาแรงยึดดึงระดับจุลภาคของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันแท้ผู้จำลองด้วยเชื้อก่อโรคทางห้องปฏิบัติการร่วมกับการวิเคราะห์แร่ธาตุ จึงนำมาสู่วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ ที่ต้องการศึกษาแรงยึดดึงระดับจุลภาคของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันผู้จำลองด้วยเชื้อก่อโรคทางห้องปฏิบัติการ และการวิเคราะห์แร่ธาตุที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นเรซินและเนื้อฟันผู้จำลอง เพื่อนำผลไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป

## วิธีการวิจัย

### การเตรียมชิ้นฟัน

การศึกษานี้ผ่านการขอยกเว้นการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หมายเลขสำคัญประจำโครงการ คือ HE642223 โดยใช้ฟันกรามซี่ที่สามของมนุษย์ซึ่งเก็บในสารละลายไทมอลความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ไม่มีรอยผุ ลึก แตก หรือผ่านการบูรณะมาก่อนจำนวน 26 ซี่ นำมาตัดในแนวนานกับด้านบดเคี้ยวด้วยเครื่องตัดฟัน ให้ได้ชิ้นฟันที่มีความหนา 5 มิลลิเมตร เป็นส่วนบริเวณ 1/3 กลางฟันถึงได้รอยต่อเคลือบรากฟัน แล้วนำชิ้นฟันมาเคลือบด้วยน้ำยาทาเล็บทุกด้าน ยกเว้นด้านบดเคี้ยว ก่อนนำไปอบฆ่าเชื้อด้วยรังสียูวีด้านละ 120 นาที จากนั้นสุ่มแบ่งชิ้นฟันออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1.กลุ่มเนื้อฟันปกติ 2.กลุ่มเนื้อฟันผุ กลุ่มละ 13 ซี่ การเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียสำหรับการเหนี่ยวนำให้เกิดรอยผุ (Rinsathon et al., 2022; Wiryasuebpong et al., 2020)

1) นำเชื้อสเตรปโตค็อกคัส มิวแทนส์ (ATCC 25175) (*S. mutans*) และแลคโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลลัส (ATCC 4356) (*L. acidophilus*) ไปเลี้ยงในอาหารวุ้นสำหรับเลี้ยงเชื้อชนิด brain heart infusion (BHI) และชนิด De Man Rogosa and Sharpe (MRS) ตามลำดับ ในตู้บ่มที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่ 37° ซ เป็นเวลา 48 ชม.

- 2) นำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อ *S. mutans* และ *L. acidophilus* มาเลี้ยงต่อในหลอดที่มีอาหารเหลวสำหรับเลี้ยงเชื้อชนิด MRS ปริมาณหลอดละ 5 มล. แล้วนำเข้าตูบเลี้ยงเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่ 37° ซ เป็นเวลา 24 ชม.
- 3) นำเชื้อแต่ละชนิดที่อยู่ในอาหารเหลวมาวัดค่าความทึบแสงของสารละลาย (optical density) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และปรับปริมาณเชื้อให้ได้ค่าความทึบแสงของสารละลายเท่ากับ 0.5
- 4) นำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มาผสมด้วยกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ร่วมกับสารละลายซูโครสร้อยละ 50 โดยผสมสารละลายซูโครสร้อยละ 50 จำนวน 1 ส่วนต่อสารละลายเชื้อที่มีเชื้อทั้ง 2 ชนิด 9 ส่วน แล้วนำไปเลี้ยงในตูบที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชม. จะได้สารละลายเชื้อที่ใช้ในการเหนี่ยวนำให้เกิดรอยโรคฟันผุในห้องปฏิบัติการ ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส ประมาณ 5-6
- 5) นำชิ้นฟันกลุ่มทดลองแช่ในสารละลายเชื้อแบคทีเรียปริมาณ 2,000 ไมโครลิตรที่เตรียมไว้ในแต่ละหลุมของถาดเลี้ยงแบบ 12 หลุม เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดรอยผุจำลอง แล้วนำถาดเลี้ยงวางในตูบเลี้ยงเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ที่ 37° ซ เป็นเวลา 72 ชม.
- 6) เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 24 ชม. และวัดค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายเชื้อแบคทีเรียทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหาร เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลาย เมื่อครบเวลา 72 ชม. นำชิ้นฟันผุไปล้างด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน เป็นเวลา 60 วินาที จะได้ฟันที่มีรอยผุความลึกประมาณ 150 ไมโครเมตร โดยค่าความลึกดังกล่าวได้มาจากการศึกษานำร่องของศุทธิณี ในปี ค.ศ. 2020

#### การบูรณะด้วยเรซินคอมโพสิต

- 1) นำชิ้นฟันในแต่ละกลุ่มมายึดกับแท่นพลาสติกที่ออกแบบมาให้เข้ากับเครื่องตัดชิ้นงานได้
  - 2) ใช้แหวนรัดทางทันตกรรม (Dental band) สูง 8 มล. โอบรอบชิ้นฟันโดยให้มีพื้นที่สำหรับวัสดุเรซินคอมโพสิตหนา 3 มล. แล้วบูรณะชิ้นฟันแต่ละการทดสอบ แต่ละกลุ่มตามขั้นตอนดังต่อไปนี้
- กลุ่มที่ 1 (S) เนื้อฟันปกติ (sound dentin)
- ใช้ฟูกันทาเจลฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 35 เป็นเวลา 15 วินาที โดยออกแรงถูเบาๆ แล้วล้างออกด้วยน้ำปราศจากไอออนเป็นเวลานาน 15 วินาทีจากนั้นเป่าลมเบาๆ 5 วินาที
  - ใช้ฟูกันทาสารยึดติดซิงเกิลบอนด์ยูนิเวอร์แซล และถูเบาๆ 20 วินาที เป่าลมเบาๆ 5 วินาที แล้วฉายแสง 10 วินาที
  - บูรณะชิ้นงานด้วยเรซินคอมโพสิตชั้นละ 1.5 มิลลิเมตร 2 ชั้น ฉายแสงชั้นละ 20 วินาที แล้วฉายแสง 4 ด้าน ได้แก่ ด้านใกล้กลาง ใกล้กลาง ใกล้แก้ม ใกล้ลิ้น ด้านละ 20 วินาที ภายหลังจากถอดแหวนรัดทางทันตกรรม
  - แช่น้ำที่อุณหภูมิ 37° ซ 24 ชม.
- กลุ่มที่ 2 (C) เนื้อฟันผุ (carious dentin)
- ทำเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1
- กลุ่มที่ 3 (ST) เนื้อฟันปกติ (sound dentin) + เทอร์โมไซคลิง 10,000 รอบ-ทำเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1 และหลังจากแช่น้ำที่อุณหภูมิ 37° ซ เป็นเวลา 24 ชม. นำชิ้นฟันเข้าเครื่องเทอร์โมไซคลิง โดยจุ่มสลับน้ำร้อน-น้ำเย็น 55 และ 5° ซ ผังละ 30 วินาที พัก 10 วินาที รวม 10,000 รอบ
- กลุ่มที่ 4 (CT) เนื้อฟันผุ (carious dentin) + เทอร์โมไซคลิง 10,000 รอบ
- ทำเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 3

#### การทดสอบ

นำชิ้นฟันที่บูรณะแล้วทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการเทอร์โมไซคลิงมาตัดในแนวแกนฟันด้วยเครื่องตัดใบเลื่อยเพชรความเร็วต่ำด้วยความเร็ว 900 รอบต่อนาที ให้ได้แท่งชิ้นงานที่มีขนาด 1(กว้าง) × 1(ยาว) × 6(สูง) มิลลิเมตร จากนั้นนำแท่งชิ้นงานไปทดสอบดังต่อไปนี้

- 1) กำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค
- นำแท่งชิ้นงานไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ หากชิ้นงานมีข้อบกพร่องจะถูกคัดออกจากการทดสอบ

- นำชิ้นงานมาทดสอบด้วยเครื่องทดสอบวัสดุเอนกประสงค์ด้วยความเร็ว 1 มิลลิเมตรต่อนาที โดยเครื่องทดสอบจะทำการบันทึกค่ากำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค (แรงที่มากที่สุดที่ทำให้ชิ้นงานเกิดการแตกหัก) เป็นหน่วยเมกะปาสคาล (MPa) และบันทึกลักษณะการแตกหัก แบ่งเป็น 3 ลักษณะ คือ แตกหักบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิต (adhesive failure) แตกหักในชั้นเนื้อฟัน (cohesive in dentin) และแตกหักในชั้นเรซินคอมโพสิต (cohesive in composite resin) หากชิ้นงานแตกหักก่อนการทดสอบ (Pre-testing failure) ให้ถือว่ามีการยึดดึงระดับจุลภาคเท่ากับ 0 MPa

2) การวิเคราะห์แร่ธาตุด้วยวิธีสแกนเชิงเส้นตรง (EDX line scan) ที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นเรซินและเนื้อฟันผู้จำลอง

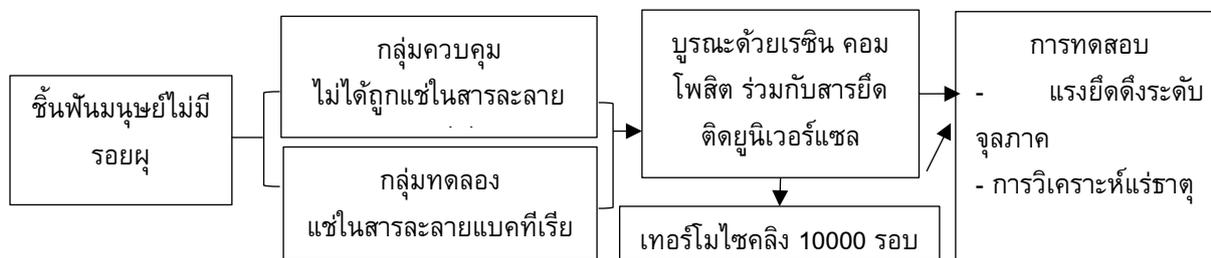
- สุ่มเลือกแท่งชิ้นงานด้านขอบ 1 ชิ้นจากแต่ละซี่ นำไปเข้าเครื่องดูความชื้น 24 ชั่วโมง แล้วนำจึงมาวิเคราะห์แร่ธาตุด้วยวิธีสแกนเชิงเส้นตรง

### การแปลผล

- ใช้สถิติเชิงพรรณนาแจกแจงข้อมูลกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคโดยใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ามัธยฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุด และใช้อธิบายและบรรยายลักษณะแร่ธาตุจากการวิเคราะห์แร่ธาตุด้วยวิธีสแกนเชิงเส้นตรง

- ใช้สถิติเชิงอนุมานในการวิเคราะห์ข้อมูลกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคโดยทำการแจกแจงข้อมูลด้วย Shapiro-Wilk และ Two-way ANOVA ร่วมกับการทำ multiple comparison เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยเลือกใช้ โดยมีค่านัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 ภายใต้การใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for window version 26

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัย

### ผลการวิจัย

1) กำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค จากตารางที่ 1 พบว่า ค่าเฉลี่ยของกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคของกลุ่มเนื้อฟันปกติ (S) มีค่ามากที่สุด คือ  $34.15 \pm 2.90$  MPa รองลงมาคือ กลุ่มเนื้อฟันปกติที่ผ่านการทำเทอร์โมไซคลิง (Thermocycling) 10,000 รอบ (ST) กลุ่มเนื้อฟันผุ (C) และกลุ่มเนื้อฟันผุที่ผ่านการทำเทอร์โมไซคลิง 10,000 รอบ (CT) มีค่า  $25.67 \pm 9.41$   $23.63 \pm 2.61$  และ  $11.21 \pm 2.53$  MPa ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์การแจกแจงข้อมูลทางสถิติด้วย Shapiro-Wilk พบว่าข้อมูลมีการแจกแจงปกติทุกกลุ่ม ( $p > 0.05$ ) จึงนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-Way Anova) พบว่าผลของเทอร์โมไซคลิงและผลของสภาพพื้นผิว (Surface condition) มีผลต่อกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค ( $p < 0.01$ ) แต่ไม่พบปฏิสัมพันธ์ร่วม (Interaction effects) ระหว่างอิทธิพลของเทอร์โมไซคลิงและสภาพพื้นผิวที่ส่งผลต่อกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาค ( $p = 2.44$ ) (ตารางที่ 2) จึงนำข้อมูลมาวิเคราะห์การเปรียบเทียบแบบรวมกลุ่ม (Independent T-Test) พบว่ากลุ่มเนื้อฟันปกติมีค่าเฉลี่ยของกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคมากกว่ากลุ่มเนื้อฟันผุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งกลุ่มที่ผ่านและไม่ผ่านการเทอร์โมไซคลิง และพบว่าการเทอร์โมไซคลิง 10,000 รอบ มีค่าเฉลี่ยของกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งกลุ่มเนื้อฟันผุและเนื้อฟันปกติ ดังภาพที่ 2

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ามัธยฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุดของกำลังแรงยึดติดระดับจุลภาค (MPa)

Group	Mean± SD	Median	Minimum	Maximum
S	34.15± 2.90	34.54	29.18	37.25
C	23.63± 2.61	24.17	17.49	26.25
ST	25.67± 9.41	23.28	15.39	42.29
CT	11.21± 2.53	11.26	7.10	14.54

จำนวนชิ้นงาน = 10 ชิ้นต่อกลุ่ม

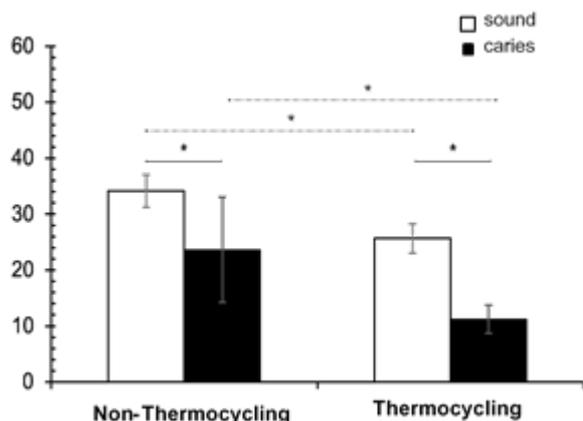
S; sound dentin, C; caries-like dentin, ST; sound dentin with thermocycling, CT; caries-like dentin with thermocycling

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-way ANOVA) เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการทำเทอร์โมไซคลิง (Thermocycling) และสภาพพื้นผิว (Surface condition) ต่อกำลังแรงยึดติดระดับจุลภาค (Micro-tensile bond strength) ที่จำนวนชิ้นฟันตัวอย่างเท่ากับ 10 ชิ้นต่อกลุ่ม

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Micro-tensile bond strength					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2689.260 <sup>a</sup>	3	896.42	32.553	<0.001
Intercept	22397.976	1	22397.976	813.371	<0.001
Thermocycling	1091.712	1	1091.712	39.645	<0.001
Surface condition	1558.877	1	1558.877	56.61	<0.001
Thermocycling * Surface condition	38.671	1	38.671	1.404	0.244
Error	991.34	36	27.537		
Total	26078.576	40			
Corrected Total	3680.6	39			

a. R Squared\*\*\* = 0.731 (Adjusted R Squared = .708)

ลักษณะการแตกหัก (ตารางที่ 3) พบว่า กลุ่มเนื้อฟันปกติ (S) มีการแตกหักบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิต (Adhesive failure) ร้อยละ 100 กลุ่มเนื้อฟันปกติที่ผ่านการทำเทอร์โมไซคลิง (ST) พบการแตกหักบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิตและแตกหักในชั้นเนื้อฟัน (Cohesive in dentin) ร้อยละ 80 และ 20 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มเนื้อฟันผุ (C) และกลุ่มเนื้อฟันผุที่ผ่านการทำเทอร์โมไซคลิง (CT) พบการแตกหักแบบเดียวกันคือแตกหักบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิตและแตกหักในชั้นเนื้อฟันร้อยละ 70 และ 30 ตามลำดับ ไม่พบชิ้นงานใดที่แตกหักในชั้นเรซินคอมโพสิต (Cohesive in resin composite) หรือแตกหักก่อนการทดสอบ (Pre-test failure)



ภาพที่ 2 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของกำลังแรงยึดติดระดับจุลภาคของแต่ละกลุ่มการทดลอง (MPa)

จำนวนชิ้นฟันตัวอย่าง = 10 ชิ้นต่อกลุ่ม

สถิติที่ใช้ในการทดสอบคือ Two-way ANOVA ร่วมกับ Independent T-test ที่ค่า  $p < 0.05$

\* = ค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

S; sound dentin, C; caries-like dentin, ST; sound dentin with thermocycling, CT; caries-like dentin with thermocycling

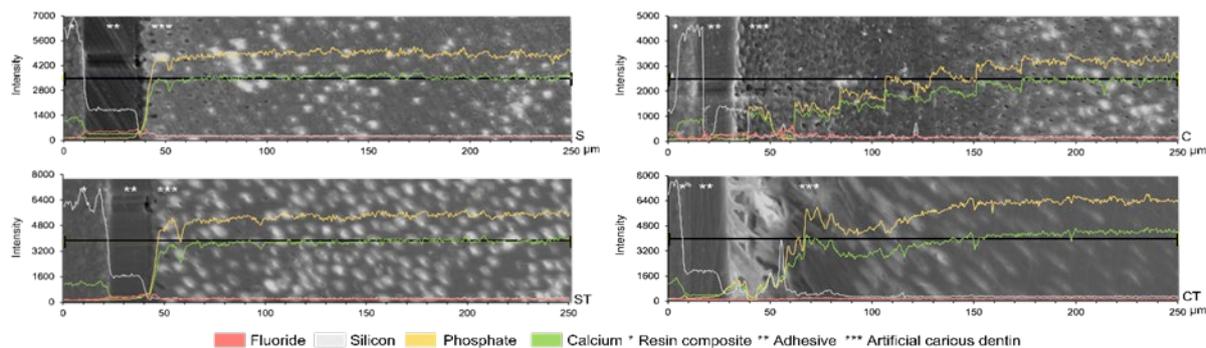
ตารางที่ 3 ร้อยละของลักษณะการแตกหัก (failure mode)

Group	Adhesive failure	Cohesive in dentin	Cohesive in resin composite	Total
S	100	0	0	100
C	70	30	0	100
ST	80	20	0	100
CT	70	30	0	100

จำนวนชิ้นงาน = 10 ชิ้นต่อกลุ่ม

S; sound dentin, C; caries-like dentin, ST; sound dentin with thermocycling, CT; caries-like dentin with thermocycling

2) การวิเคราะห์แร่ธาตุด้วยวิธีสแกนเชิงเส้นตรง (EDX line scan) ที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นเรซินและเนื้อฟันผู้จำลอง จากภาพที่ 3 ผลการตรวจวิเคราะห์แร่ธาตุที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นเรซินและเนื้อฟันผู้จำลองกำลังขยาย 500 เท่า พบว่า ทุกกลุ่มมีแร่ธาตุซิลิคอน (Si) ซึ่งเป็นตัวแทนของสารประกอบในเรซินคอมโพสิตและสารยึดติด กระจายตัวมากที่สุดที่บริเวณชั้นเรซินคอมโพสิต และลดต่ำลงมาในชั้นสารยึดติด แต่ไม่พบที่ชั้นเนื้อฟัน ที่ชั้นเนื้อฟันระดับความลึก 50-100 ไมครอน กลุ่มเนื้อฟันปกติ (S) (ภาพที่ 3S) มีปริมาณแคลเซียม (Ca) และฟอสฟอรัส (P) มากที่สุด เมื่อกลุ่มเนื้อฟันปกติผ่านการทำเทอร์โมไซคลิง (ST) (ภาพที่ 3ST) จะเห็นว่าปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสลดลง ในขณะที่กลุ่มเนื้อฟันผู้ (C) (ภาพที่ 3C) พบปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ต่ำโดยที่ยังไม่ผ่านการเทอร์โมไซคลิง และเมื่อผ่านการเทอร์โมไซคลิง (CT) ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัส ก็ยิ่งลดลง (ภาพที่ 3CT)



**ภาพที่ 3** แสดงการกระจายตัวขององค์ประกอบของแร่ธาตุ (F Si P และ Ca) ที่บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นเรซินและเนื้อฟันจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดร่วมกับเครื่องวิเคราะห์ธาตุ (SEM/EDS analysis) ที่กำลังขยาย 500 ด้วยวิธีการสแกนเชิงเส้นตรง (EDS line scan) (เส้นตรงสีดำกึ่งกลางภาพ; แสดงตำแหน่งที่วิเคราะห์แร่ธาตุ โดยมีระยะทาง 250 ไมโครเมตร)

จำนวนชิ้นฟันตัวอย่างในการทดสอบ = 3 ชิ้นต่อกลุ่ม

S; sound dentin, C; caries-like dentin, ST; sound dentin with thermocycling, CT; caries-like dentin with thermocycling

### สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

เนื้อฟันที่มีโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งแสดงให้เห็นจากผลการวิเคราะห์แร่ธาตุจากการศึกษาค้นคว้าที่พบว่า ปริมาณแร่ธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสของกลุ่มเนื้อฟันที่ระดับความลึก 50-100 ไมครอน ลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับกลุ่มเนื้อฟันปกติ โดยผลเหมือนกันทั้งกลุ่มที่ผ่านและไม่ผ่านการเทอร์โมไซคลิง กระบวนการเกิดฟันผุนอกจากจะทำให้สูญเสียแร่ธาตุบริเวณระหว่างท่อเนื้อฟันแล้ว ยังส่งเสริมให้เกิดการสะสมแร่ธาตุในท่อเนื้อฟันที่เรียกว่า เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (Beta-tricalcium phosphate;  $\beta$ -TCP) หรือไวท์ลอคโคไคท์ (Whitlockite) อีกด้วย เมื่อบูรณะฟันผุด้วย เรซินคอมโพสิตร่วมกับสารยึดติดระบบเอทซ์แอนดรีนส์ กรดฟอสฟอริกจะสามารถแทรกซึมลงไปยังบริเวณระหว่างท่อเนื้อฟันได้มาก (Nakajima et al., 1995) แต่เนื่องจากไวท์ลอคโคไคท์มีคุณสมบัติการละลายตัวที่ต่ำกว่าไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) กรดฟอสฟอริกจึงไม่สามารถกำจัดไวท์ลอคโคไคท์ออกได้หมด แร่ธาตุที่อุดตันในท่อเนื้อฟันจึงขัดขวางการแทรกซึมที่สมบูรณ์ของสารยึดติด (Arrais et al., 2004; Koyuturk et al., 2006; Wang et al., 2007) ชั้นไฮบริด (hybrid layer) ของเนื้อฟันจึงมีความหนาที่มาก แต่กลับไม่สมบูรณ์และมีความแข็งแรงต่ำกว่าในเนื้อฟันปกติ (Çehreli et al., 2003; Erhardt et al., 2008; Nakajima et al., 2000; Pereira et al., 2006) อีกทั้งบริเวณเนื้อฟันผุจะพบรูพรุนที่มาก เป็นผลจากการสูญเสียแร่ธาตุ จึงมีน้ำเข้ามาสะสมแทนที่บริเวณช่องว่าง (Ito et al., 2005) ทำให้สารยึดติดที่ไม่ชอบน้ำไม่แทรกซึมลงไป ในท่อเนื้อฟันได้ จึงเกิดชั้นไฮบริดที่ไม่สมบูรณ์ตามมา (Milia et al., 2012) และเมื่อผ่านการใช้งาน ชั้นไฮบริดที่ไม่สมบูรณ์ของเนื้อฟันผุจึงเกิดความเสื่อมได้มากกว่าในเนื้อฟันปกติ ดังนั้นเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นจึงมีความสอดคล้องกับค่ากำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคในการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่า กลุ่มเนื้อฟันผุมีค่าเฉลี่ยกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคต่ำกว่าเนื้อฟันปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งกลุ่มที่ผ่านและไม่ผ่านการเทอร์โมไซคลิง รวมถึงผลลักษณะการแตกหักในกลุ่มเนื้อฟันผุที่ไม่ได้ผ่านการเทอร์โมไซคลิงมีการแตกหักบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิตร้อยละ 70 และแตกหักในชั้นเนื้อฟันร้อยละ 30 ในขณะที่กลุ่มเนื้อฟันปกติที่ไม่ได้ผ่านการเทอร์โมไซคลิงพบเพียงการแตกหักบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิตเท่านั้น แสดงให้เห็นว่า เนื้อฟันผุมีความอ่อนแอมากขึ้นจึงเกิดการแตกในชั้นเนื้อฟัน นอกจากนี้ผลการศึกษานี้ก็ยังสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Nicoloso และคณะ ในปี 2017 ที่พบว่า ค่าเฉลี่ยกำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคของกลุ่มเนื้อฟันปกติกับสารยึดติดยูนิเวอร์แซลระบบเอทซ์แอนดรีนส์มากกว่ากลุ่มเนื้อฟันผุจำลองทางเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่า กลุ่มเนื้อฟันผุมีการแตกหักก่อนการทดสอบมากถึงร้อยละ 17 ซึ่งแสดงถึงความอ่อนแอของเนื้อฟันเนื่องจากการสูญเสียแร่ธาตุไป ส่วนใน

ฟันปกติที่พบว่ามีการแตกหักในชั้นเนื้อฟันหรือในชั้นเรซินคอมโพสิตร้อยละ 30 อาจเป็นเพราะบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิตมีความแข็งแรงมาก ซึ่งมากกว่าในชั้นเนื้อฟันและในชั้นเรซินคอมโพสิต บริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิตจึงไม่แตกหักก่อนบริเวณทั้งสอง (Nicoloso et al., 2017)

การเทอร์โมไซคลิกเป็นการจำลองความเสื่อมด้วยปัจจัยทางกายภาพ ซึ่งการทำเทอร์โมไซคลิก 10,000 รอบ เทียบเท่ากับการใช้งานเรซินคอมโพสิตในช่องปาก 1 ปี (Gale & Darvell, 1999) เทอร์โมไซคลิกทำให้เกิดการสลายตัวด้วยน้ำและอนุมูล (Szczesio-Wlodarczyk et al., 2020) โดยอนุมูลมีสร้างความเครียด (stress) ที่บริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิตจากอัตราการหดและขยายตัวของวัสดุและเนื้อฟันที่แตกต่างกัน (Hammal et al., 2021) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าค่ากำลังแรงยึดดึงระดับจุลภาคกลุ่มเนื้อฟันผุและเนื้อฟันปกติลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อผ่านการเทอร์โมไซคลิก อีกทั้งการทำเทอร์โมไซคลิกอาจส่งผลให้เนื้อฟันปกติและเนื้อฟันผุมีการเสื่อมสลายของแร่ธาตุมากขึ้น จากการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุพบว่า แคลเซียมและฟอสฟอรัสลดลงทั้งในชั้นเนื้อฟันปกติและเนื้อฟันผุที่ระดับความลึก 50-100 ไมครอน (ภาพที่ 3) ส่งผลให้เนื้อฟันมีความอ่อนแอ เกิดการแตกหักได้ง่าย จึงพบการแตกหักในเนื้อฟันที่มากขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 20 ในเนื้อฟันปกติ

จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า ค่ากำลังแรงยึดดึงของสารยึดติดยูนิเวอร์แซลต่อเนื้อฟันผุจำลองมีค่าต่ำกว่าเนื้อฟันปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งกลุ่มที่ผ่านและไม่ผ่านการทำเทอร์โมไซคลิก 10,000 รอบ โดยเนื้อฟันผุจะมีปริมาณแร่ธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสในบริเวณชั้นเนื้อฟันที่ระดับความลึก 50-100 ไมครอนที่ลดลงน้อยกว่าเนื้อฟันปกติ และจะลดลงอย่างมากเมื่อผ่านการทำเทอร์โมไซคลิก

#### ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

เมื่อพิจารณาการบูรณะเนื้อฟันทางคลินิกตามหลักการแบบอนุรักษ์ (Minimal invasive restoration) ที่เลือกกำจัดฟันผุถึงเนื้อฟันที่นิ่ม (Selective removal to soft dentin) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเนื้อฟันผุมีค่ากำลังแรงยึดดึงน้อยกว่าเนื้อฟันปกติ และเมื่อผ่านการใช้งานยังมีค่ากำลังแรงยึดดึงที่น้อยลง ในอนาคตจึงอาจศึกษาสารชนิดอื่นเพื่อปรับสภาพพื้นผิวฟันผุให้มีค่ากำลังแรงยึดดึงเพิ่มขึ้น ให้มีความเหมาะสมกับการใช้งานทางคลินิกต่อไป

#### เอกสารอ้างอิง

- Arrais, C. A. G., Giannini, M., Nakajima, M., & Tagami, J. (2004). Effects of additional and extended acid etching on bonding to caries-affected dentine. *European Journal of Oral Sciences*, 112(5).
- Çehreli, Z. C., Yazici, A. R., Akca, T., & Özgünaltay, G. (2003). A morphological and micro-tensile bond strength evaluation of a single-bottle adhesive to caries-affected human dentine after four different caries removal techniques. *Journal of Dentistry*, 31(6).
- Erhardt, M. C. G., Rodrigues, J. A., Valentino, T. A., Ritter, A. V., & Pimenta, L. A. F. (2008). In vitro  $\mu$ TBS of one-bottle adhesive systems: Sound versus artificially-created caries-affected dentin. *Journal of Biomedical Materials Research-Part B Applied Biomaterials*, 86(1).
- Frencken, J. E., Peters, M. C., Manton, D. J., Leal, S. C., Gordan, V. v., & Eden, E. (2012). Minimal intervention dentistry for managing dental caries-A review: Report of a FDI task group. *International Dental Journal*, 62(5).
- Gale, M. S., & Darvell, B. W. (1999). Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *Journal of Dentistry*, 27(2).
- Hammal, M., Chlup, Z., Ingr, T., Staněk, J., & Mounajjed, R. (2021). Effectiveness of dentin pre-treatment on bond strength of two self-adhesive resin cements compared to an etch-and-rinse system: An in vitro study. *PeerJ*, 9.

- Holmgren, C. J., Roux, D., & Doméjean, S. (2013). Minimal intervention dentistry: Part 5. Atraumatic restorative treatment (ART)-a minimum intervention and minimally invasive approach for the management of dental caries. *British Dental Journal*, 214(1).
- Ito, S., Hashimoto, M., Wadgaonkar, B., Svizero, N., Carvalho, R. M., Yiu, C., Rueggeberg, F. A., Foulger, S., Saito, T., Nishitani, Y., Yoshiyama, M., Tay, F. R., & Pashley, D. H. (2005). Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*, 26(33).
- Koyuturk, A. E., Sengun, A., Ozer, F., Sener, Y., & Gokalp, A. (2006). Shear bond strengths of self-etching adhesives to caries-affected dentin on the gingival wall. *Dental Materials Journal*, 25(1).
- Milia, E., Pinna, R., Castelli, G., Bortone, A., Marceddu, S., Garcia-Godoy, F., & Gallina, G. (2012). TEM morphological characterization of a one-step self-etching system applied clinically to human caries-affected dentin and deep sound dentin. *American Journal of Dentistry*, 25(6).
- Müller, C., Rosa, G. C. da, Teixeira, G. S., Krejci, I., Bortolotto, T., & Susin, A. H. (2017). Effect of caries-affected dentin on one-step universal and multi-step etch-and-rinse adhesives' bond strength. *Revista de Odontologia Da UNESP*, 46(5).
- Nakajima, M., Sano, H., Burrow, M. F., Tagami, J., Yoshiyama, M., Ebisu, S., Ciucchi, B., Russell, C. M., & Pashley, D. H. (1995). Tensile Bond Strength and SEM Evaluation of Caries-affected Dentin Using Dentin Adhesives. *Journal of Dental Research*, 74(10).
- Nakajima, M., Sano, H., Urabe, I., Tagami, J., & Pashley, D. H. (2000). Bond strengths of single-bottle dentin adhesives to caries-affected dentin. *Operative Dentistry*, 25(1).
- Nicoloso, G. F., Antoniazzi, B. F., Lenzi, T. L., Soares, F. Z. M., & Rocha, R. O. (2017). The bonding performance of a universal adhesive to artificially-created caries-affected dentin. *Journal of Adhesive Dentistry*, 19(4).
- Pereira, P. N. R., Nunes, M. F., Miguez, P. A., & Swift, E. J. (2006). Bond strengths of a 1-step self-etching system to caries-affected and normal dentin. *Operative Dentistry*, 31(6).
- Rinsathon, J., Wiriyasuebpong, S., Bouanil, S., & Pawaputanon Na Mahasarakam, C. (2022, January). *Preservation of silver diamine fluoride treated artificial dentinal caries after surface cleaning to support glass ionomer cement restoration*.
- Schwendicke, F., Frencken, J., & Innes, N. (2018). Caries Excavation: Evolution of Treating Cavitated Carious Lesions. *Monogr Oral Sci.*, (Vol. 27).
- Schwendicke, F., Stolpe, M., Meyer-Lueckel, H., Paris, S., & Dörfer, C. E. (2013). Cost-effectiveness of one- and two-step incomplete and complete excavations. *Journal of Dental Research*, 92(10).
- Szczesio-Włodarczyk, A., Sokolowski, J., Kleczewska, J., & Bociog, K. (2020). Ageing of dental composites based on methacrylate resins-A critical review of the causes and method of assessment. *Polymers*, 12(4).
- Wang, Y., Spencer, P., & Walker, M. P. (2007). Chemical profile of adhesive/caries-affected dentin interfaces using Raman microspectroscopy. *Journal of Biomedical Materials Research-Part A*, 81(2).
- Wiriyasuebpong, S., Chaichit, R., Phetsuk, P., & Pawaputanon Na Mahasarakam, C. (2020, May). *An in vitro microbial model to create caries-like lesions on human dentin*.

**Data Availability Statement:** The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

**Conflicts of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

**Publisher's Note:** All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.



**Copyright:** © 2023 by the authors. This is a fully open-access article distributed under the terms of the Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).