

Comparison of Microleakage between Resin Sealant with Amorphous Calcium Phosphate Versus Sealants with and without Fluoride

Thidarat Angwarawong¹, Kanyarat Thangsiriamnuay², Chutikarn Badkeaw², Thipsuda Tadmala², Siripak Nirothorn² and Onauma Angwaravong³

¹Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphur Muaeng, Khon Kaen, Thailand

²Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphur Muaeng, Khon Kaen, Thailand

³Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphur Muaeng, Khon Kaen, Thailand

Correspondence to:

Onauma Angwaravong. Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphur Muaeng, Khon Kaen 40002, Thailand Tel: 043-202222-41 ext. 11157 Fax: 043-202862 E-mail: onaang @ kku.ac.th

Abstract

The aim of this *in vitro* study was to evaluate the median of the mean of microleakage in three pit and fissure sealants. In this study, sealants used were resin-based sealant without fluoride releasing, with fluoride releasing and amorphous calcium phosphate. Ninety permanent maxillary premolars were randomly divided into 3 groups. The application of each sealant followed manufacturer's instructions. All teeth were thermocycled for 500 cycles between 5°C and 55°C. After thermocycling the whole surface of each tooth was coated with nail varnish except for one millimeter around the sealant. The teeth were immersed in 0.5% methylene blue for 24 hours and then sectioned buccolingually by precision saw, model ISOMET™. The sections were analyzed for microleakage under $\times 30$ magnification of a stereomicroscope. The median of the mean of microleakage were analyzed by the Kruskal-Wallis statistic among 3 groups at 0.05 α level, the statistical differences in microleakage were found among three materials ($p < 0.001$). The comparison of the microleakage between two groups by the Mann-Whitney U statistic at 0.0167 α level resulted the no significant differences between sealants with and without fluoride groups ($p = 0.082$). There were significant differences between sealants with ACP and sealants without fluoride ($p = 0.007$), and also between sealants with ACP and with fluoride ($p < 0.001$) as well. In conclusion resin-based sealants with ACP had higher microleakage than resin-based sealants with and without fluoride releasing.

Key words: Amorphous calcium phosphate; Fluoride; Microleakage; Pit and fissure sealant

การเปรียบเทียบรอยซึมเล็กระหว่างสารพริกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่มี อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต กับชนิดที่มีและไม่มีฟลูออไรด์

อิศรัตน์ อังวรารวงศ์¹, กัลยรัตน์ ตั้งศิริอำนวย², ชุตติกานต์ บัดแก้ว², ทิพย์สุตา ทัดมาลา², สิริพัชร์ นิโรธร² และอรอุมา อังวรารวงศ์³

¹ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

²คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

³ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

อรอุมา อังวรารวงศ์ ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

โทรศัพท์: 043-202222-41 ต่อ 11157 โทรสาร: 043-202862 อีเมล: onaang@kku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาในห้องปฏิบัติการมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยรอยซึมเล็กของสารพริกหลุมและร่องฟัน 3 ชนิด โดยทำในฟันกรามน้อยบนจำนวน 90 ซี่ สุ่มแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ผนึกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่ไม่มีฟลูออไรด์ กลุ่มที่ 2 ผนึกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่มีฟลูออไรด์ และกลุ่มที่ 3 ผนึกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่มีอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต ตามวิธีการใช้ที่บริษัทกำหนด จากนั้นนำฟันไปแช่ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบร้อนเย็นเป็นจังหวะ ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สลับกับ 55 องศาเซลเซียส จำนวน 500 รอบ แล้วทาน้ำยาทาเล็บให้ทั่วฟัน โดยเว้นบริเวณที่ห่างจากขอบของสารพริกหลุมและร่องฟันออกมา 1 มิลลิเมตร นำฟันไปแช่ในสารละลายสีย้อมเมทิลีนบลูความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตัดฟันในแนวแกมกลัน ด้วยเครื่องตัดฟันยี่ห้อไอโซเมท และวัดรอยซึมเล็กด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอกำลังขยาย 30 เท่า เมื่อเปรียบเทียบค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยของรอยซึมเล็กทั้ง 3 กลุ่ม ด้วยสถิติทดสอบครัสคัล-วอลลิส ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) เมื่อพิจารณาเป็นคู่ของกลุ่มศึกษาด้วยสถิติทดสอบแมนวิทนียู่ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.0167 พบว่า ค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยรอยซึมเล็กของกลุ่มสารพริกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่ไม่มีฟลูออไรด์ แตกต่างกับกลุ่มสารพริกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่มีฟลูออไรด์ อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.082$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มสารพริกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่ไม่มีฟลูออไรด์ กับกลุ่มสารพริกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่มีอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต และกลุ่มสารพริกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่มีฟลูออไรด์ กับกลุ่มสารพริกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่มีอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต พบว่า ค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยรอยซึมเล็กแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ตามลำดับ ($p = 0.007$, $p < 0.001$) สรุปว่า การผนึกหลุมและร่องฟันเรซินชนิดที่มีอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต เกิดรอยซึมเล็กมากกว่าสารพริกหลุมร่องฟันเรซินชนิดที่มีและไม่มีฟลูออไรด์

คำสำคัญ: ฟลูออไรด์; รอยซึมเล็ก; สารพริกหลุมและร่องฟัน; อะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต

บทนำ

โรคฟันผุเป็นปัญหาสุขภาพช่องปากที่สำคัญ พบบ่อยในประชาชนทุกเพศ ทุกวัย ส่งผลเสียโดยตรงต่อสุขภาพช่องปากและยังมีผลกระทบต่อสุขภาพร่างกายโดยรวม โดยมักพบการเกิดฟันผุบริเวณหลุมและร่องฟันของฟันกรามในเด็กและวัยรุ่นอายุ 5 - 16 ปี¹ โดยเฉพาะบริเวณด้านบดเคี้ยวของฟันกรามแท้ที่กำลังขึ้น ซึ่งสาเหตุมาจากการพัฒนาของชั้นเคลือบฟันยังไม่สมบูรณ์ ลักษณะกายวิภาคของด้านบดเคี้ยวที่ซับซ้อน และการแปรงฟันบริเวณดังกล่าว เข้าถึงได้ลำบาก ทำให้คราบจุลินทรีย์สะสมได้ง่าย² ดังนั้นการส่งเสริมสุขภาพเพื่อป้องกันฟันผุ จึงมีความสำคัญ เช่น การแปรงฟันด้วยยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหาร ร่วมกับการใช้สารฟลักและร่องฟันเพื่อป้องกันฟันผุ ตั้งแต่ฟันกรามแท้ซี่ที่ 1 เริ่มขึ้นภายในช่องปาก โดยการฉีกฟลักและร่องฟันเป็นหนึ่งในวิธีการป้องกันฟันผุในเด็ก ที่ได้รับความนิยม เนื่องจากสารฟลักและร่องฟันสามารถเป็นชั้นป้องกันและกำจัดการเข้าถึงของแบคทีเรียที่ก่อโรคฟันผุกับแหล่งอาหาร ซึ่งสามารถลดการเกิดฟันผุได้อย่างมีประสิทธิภาพ³

คุณสมบัติของสารฟลักและร่องฟันที่ดี เช่น ยับยั้งการเกิดโรคฟันผุ ความแข็งแรง ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) การไหลและแทรกซึมได้ดี ซึ่งทำให้เกิดการฉีก (seal) ที่ดีของสารฟลักและร่องฟัน เป็นต้น⁴ ดังนั้นการยึดอยู่อย่างแนบสนิท ปราศจากรอยซึมเล็ก (microleakage) ตามขอบระหว่างวัสดุและผิวฟัน จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญของการฉีกฟลักและร่องฟัน เนื่องจากการฉีกที่ไม่ดีพอ บริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุและผิวฟัน จะทำให้เกิดรอยซึมเล็กตามขอบได้ ซึ่งรอยซึมเล็กเป็นทางผ่านของแบคทีเรีย ของเหลว โมเลกุล และไอออนต่าง ๆ ระหว่างฟันและขอบของวัสดุบูรณะฟัน⁵

ปัจจุบันสารฟลักและร่องฟันสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดหลัก คือ สารฟลักและร่องฟันกลาสไอโอโนเมอร์ (glass ionomer sealants) และสารฟลักและร่องฟันที่มีเรซินเป็นองค์ประกอบพื้นฐาน (resin-based sealants) ซึ่งมีทั้งชนิดที่ไม่มีฟลูออไรด์ และมีฟลูออไรด์ โดยชนิดที่มีฟลูออไรด์มีการผลิต 2 ลักษณะ คือ การเติมเกลือฟลูออไรด์ที่ละลายได้ (soluble fluoride salt) เข้าไปในสารเรซิน เมื่อฉีกฟลักและร่องฟันแล้ว เกลือจะละลายและฟลูออไรด์ไอออนจะถูกปลดปล่อยออกมา ส่วนอีกลักษณะหนึ่งคือการเติมสารประกอบอินทรีย์ฟลูออไรด์ (organic fluoride compound) ที่เกิดการเชื่อมกับสารเรซินด้วยพันธะทางเคมีเข้าไป ซึ่งจะมีการปลดปล่อยฟลูออไรด์โดยการแลกเปลี่ยนไอออน กับไอออนที่อยู่รอบ ๆ^{4,6} อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาของ Garcia-Godoy และคณะพบว่า ปริมาณฟลูออไรด์ที่ปลดปล่อยจากสารฟลักและร่องฟันที่มีฟลูออไรด์นั้น จำนวนฟลูออไรด์มากที่สุด จะถูกปลดปล่อยออกมาภายใน 24 ชั่วโมงแรก และค่อย ๆ ลดลงอย่างรวดเร็ว⁷

ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา จึงได้มีการพัฒนาวัสดุซึ่งช่วยในการ

กระตุ้นให้เกิดการซ่อมแซมโครงสร้างของฟัน โดยนำมาใช้ในระยะเวลาเริ่มต้นของการเกิดฟันผุ เพื่อให้สามารถยับยั้งกระบวนการเกิดฟันผุซึ่งอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต หรือ เอซีพี (amorphous calcium phosphate or ACP) เป็นสารที่ได้รับการพัฒนาขึ้น ให้มีคุณสมบัติในการส่งเสริมให้เกิดการคืนกลับของแร่ธาตุ กลไกการทำงานของเอซีพีพบว่า ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด เอซีพีจะปล่อยแคลเซียมและฟอสเฟตไอออนออกมา ทำให้เกิดสภาวะอิ่มตัวเกินของแคลเซียมและฟอสเฟตรอบ ๆ ตัวฟัน จึงช่วยยับยั้งการละลายของแร่ธาตุและส่งเสริมให้มีการคืนกลับของแร่ธาตุ^{8,9} และช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเคลือบฟันได้¹⁰ ซึ่งการศึกษาของ Skrtic และคณะในปี ค.ศ. 1996 พบว่า เมทาคริลเลตคอมโพสิต (methacrylate composites) ที่มีการเติมเอซีพีเข้าไปมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการคืนกลับแร่ธาตุผ่านเข้าไปไม่เพียงแค่บริเวณผิวของรอยฟันเท่านั้น แต่สามารถลงไปลึกเข้าไปในชั้นของรอยฟันผุด้วย¹¹ และเอซีพียังสามารถขัดขวางการเกาะกลุ่มของแบคทีเรียก่อโรคฟันผุนิวฟันได้ด้วย¹² มีหลายการศึกษาที่มีการทดสอบคุณสมบัติของสารฟลักและร่องฟันที่มีเอซีพี เช่น การทดสอบกำลังแรงดึงเล็ก (microtensile)¹³ การเกิดการคืนกลับของแร่ธาตุ¹⁴ และการเกิดรอยซึมเล็ก^{15,16}

มีการพัฒนาเอซีพีมาใช้ในรูปแบบของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น น้ำยาบ้วนปาก ยาอม และสารฟลักและร่องฟัน ซึ่งสารฟลักและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี ที่จำหน่ายในท้องตลาด คือ Aegis[®] ซึ่งมีการศึกษาเกี่ยวกับการเกิดรอยซึมเล็กตามขอบวัสดุของวัสดุที่มีเอซีพีหลายการศึกษา ได้แก่ การศึกษาของ Marks และคณะในปี ค.ศ. 2009 เปรียบเทียบรอยซึมเล็กระหว่างสารฟลักและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี และชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ ร่วมกับการใช้และไม่ใช้สารยึดติด (adhesive agents) พบว่า สารฟลักและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี มีค่ารอยซึมเล็กตามขอบน้อยกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.003$)¹⁵ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Selecman และคณะในปี ค.ศ. 2007 ที่เปรียบเทียบการเกิดรอยซึมเล็กในสารฟลักและร่องฟันชนิดต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการ คือ สารฟลักและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี ชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ ชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ และชนิดกลาสไอโอโนเมอร์ ผลการศึกษา คือ สารฟลักและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพีเกิดรอยซึมเล็กน้อยกว่าสารฟลักและร่องฟันชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.006$)¹⁶

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Vinay ในปี ค.ศ. 2002 ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของรอยซึมเล็กของสารฟลักและร่องฟันชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ และชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ พบว่า สารฟลักและร่องฟันชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ มีค่ารอยซึมเล็กน้อยกว่าชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)¹⁷ ในขณะการศึกษาของ Park และคณะในปี ค.ศ. 1993 และการศึกษาของ Michalaki และคณะในปี ค.ศ. 2010 พบว่า ค่ารอยซึมเล็กระหว่างสารฟลักและร่องฟันชนิดเรซินที่มีและไม่มีฟลูออไรด์มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)^{18,19}

จากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับการเกิดรอยซึมเล็กในสารฟันหลุมและร่องฟันจะพบว่า การศึกษาทั้งหมดให้ผลที่ขัดแย้งกัน¹⁵⁻¹⁹ เนื่องจากแต่ละการศึกษามีการใช้สารฟันหลุมและร่องฟันที่ต่างชนิดกัน ทำให้มีส่วนประกอบหลักแตกต่างกัน ส่งผลถึงคุณสมบัติของวัสดุ ทำให้การรอยซึมเล็กที่ได้อาจเปลี่ยนแปลงไปได้ รวมถึงมีขั้นตอนการทดลอง ฟันที่ใช้และวิธีการวัดการรอยซึมเล็กที่ไม่เหมือนกัน ทำให้ไม่สามารถนำผลการศึกษามาเปรียบเทียบกันได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการศึกษากการเกิดรอยซึมเล็กในสารฟันหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี เปรียบเทียบกับสารฟันหลุมและร่องฟันชนิดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในหน่วยงาน โดยมีวัตถุประสงค์ในการเปรียบเทียบสารฟันหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี (Aegis[®]) กับสารฟันหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ (Concise[®]) และสารฟันหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ (Teethmate F-1[®]) ในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นปัจจัยหนึ่งในการประกอบการตัดสินใจของทันตแพทย์ ในการเลือกใช้สารฟันหลุมและร่องฟันชนิดต่าง ๆ เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในหน่วยงานได้

การศึกษานี้ผ่านการรับรองคณะกรรมการการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ก่อนเริ่มการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

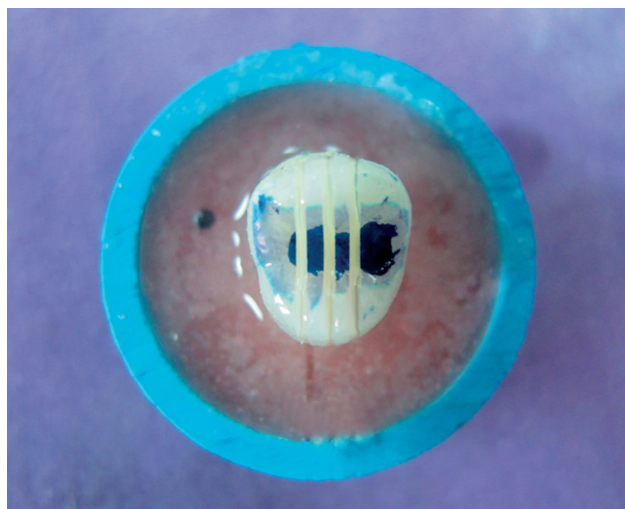
ขั้นตอนการเตรียมฟัน นำฟันกรามน้อยบนแท้ที่ถูกลอน เพื่อการจัดฟัน ซึ่งปราศจากรอยผุหรือพยาธิสภาพใด ๆ และไม่เคยผ่านการบูรณะหรือได้รับการฉีกหลุมและร่องฟันมาก่อน จำนวน 90 ซี่ ที่เก็บในสารละลายคลอรามินที่ ความเข้มข้นร้อยละ 1 ไม่เกิน 6 เดือน นำฟันมาทำความสะอาด เพื่อกำจัดหินน้ำลาย (calculus) และเศษ (debris) เนื้อเยื่อที่ติดอยู่บริเวณผิวฟันด้วยเครื่องมือเกรซีคิวเรตต์ เบอร์ ¾ จากนั้นขัดด้านบดเคี้ยว ด้วยหัวขัดยางรูปถ้วยที่ต่อกับหัวกรอความเร็วต่ำร่วมกับผงพัมมิช (pumice) เมื่อทำความสะอาดฟันเรียบร้อยแล้ว จะยัดฟันด้วยอะคริลิกเรซินชนิดบ่มเองในท่อพีวีซี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว สูง 1 นิ้ว หลังจากนั้น ผู้วิจัยได้ทำการสุ่มฟันออกเป็น 3 กลุ่มด้วยการสุ่มอย่างง่าย ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ผนึกหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ (Concise[®]) (3M ESPE, St.Paul, MN, USA) กลุ่มที่ 2 ผนึกหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ (Teethmate F-1[®]) (Kuraray Medical Inc., Kurashiki, Okayama, Japan) และกลุ่มที่ 3 ผนึกหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี (Aegis[®]) (Bosworth Co., Skokie, Illinois, USA) โดยกำหนดให้มีผู้ผนึกหลุมและร่องฟันเพียงคนเดียวตลอดการศึกษา

ขั้นตอนการฉีกหลุมและร่องฟัน ทำการปรับสภาพผิวฟันด้วยกรดฟอสฟอริกบริเวณหลุมและร่องฟันด้านบดเคี้ยว โดยกลุ่มที่ 1 ใช้ Scotchbond Etchant[®] ความเข้มข้นร้อยละ 37 กลุ่มที่ 2 ใช้ K-etchant gel[®] ความเข้มข้นร้อยละ 40 และกลุ่มที่ 3 ใช้ Acit Etch[®] ความเข้มข้นร้อยละ 35 จากนั้นล้างด้วยกระบอกฉีดน้ำ แล้ว

เป่าลมให้แห้ง จนกระทั่งผิวเคลือบฟันมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น แล้วจึงทาสารฟันหลุมและร่องฟันไปตามหลุมและร่องฟันด้วยอุปกรณ์สำหรับทาสารฟันหลุมและร่องฟันของแต่ละบริษัท หลังจากนั้น ฉายแสงด้วยเครื่องฉายแสงชนิด Elipar[™] 2500 Halogen Curing Light (3M ESPE, St.Paul, MN, USA) ที่ได้ผ่านการทดสอบแล้วว่า มีความเข้มแสงเพียงพอ คือ มากกว่าหรือเท่ากับ 800 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตร (mW/cm²) ซึ่งในขั้นตอนการทำ ในแต่ละกลุ่มจะใช้ระยะเวลาตามคำแนะนำที่บริษัทกำหนด

ขั้นตอนการเก็บรักษาฟัน นำฟันที่ผนึกหลุมและร่องฟันแล้ว มาแช่ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบร้อนเย็น (thermocycling) เป็นจังหวะที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สลับกับ 55 องศาเซลเซียส จำนวน 500 รอบ รอบละ 30 วินาที²⁰ หลังจากนั้นทำให้ฟันแห้ง แล้วทาลายาทาเล็บ (Revlon, New York, USA) ให้ทั่ว โดยเว้นบริเวณที่ห่างจากขอบของสารฟันหลุมและร่องฟันออกมา 1 มิลลิเมตร แล้วนำฟันมาแช่ในสารละลายสีย้อมเมทิลีนบลู ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง^{21,22} แล้วล้างสีย้อมส่วนเกินออกด้วยน้ำสะอาด และเป่าให้แห้ง

ขั้นตอนการทดสอบรอยซึมเล็กของสารฟันหลุมและร่องฟัน ตัดแบ่งฟันในแนวด้านแก้มไปด้านเพดาน โดยเริ่มตัดที่จุดกึ่งกลางฟัน แล้วจึงตัดห่างไปทางด้านใกล้กลางและด้านไกลกลาง ด้านละ 1 มิลลิเมตร (รูปที่ 1) หลังจากนั้นตัดตัวฟันออกจากรากฟัน ในแนวขวาง ซึ่งในฟัน 1 ซี่ จะได้ชิ้นตัวอย่างที่จะนำมาวัดรอยซึมเล็กของสารฟันหลุมและร่องฟันมี 2 ชิ้น ซึ่งมีความหนาชิ้นละ 1 มิลลิเมตร (รูปที่ 1) โดยกำหนดให้ผู้วัดรอยซึมเล็กของสารฟันหลุมและร่องฟันเพียง 1 คน ซึ่งเป็นคนละคนกับคนที่ทำการผนึกหลุมและร่องฟัน ผู้วัดรอยซึมเล็กจะถูกปิดบัง ไม่ทราบว่าเป็นสารฟันหลุมและร่องฟันชนิดใด การวัดรอยซึมเล็กจะดูจากการแทรกซึมของสารละลายสีย้อม



รูปที่ 1 การตัดแบ่งฟันในแนวแก้มลิ้น

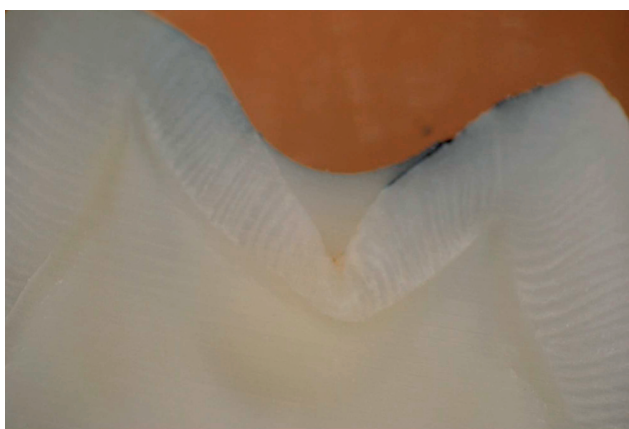
Figure 1 Buccolingual sectioning of the tooth

เมทิลีนบลูบริเวณรอยต่อระหว่างสารผนึกหลุมและร่องฟันกับผิวฟันด้วย กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Nikon measurescope 20, Yokohama, Japan) กำลังขยาย 30 เท่า โดยวัดระยะทางการแทรกซึมของสี ย้อมเมทิลีนบลูจากขอบของสารผนึกหลุมและร่องฟัน และค่าจากขอบของสารผนึกหลุมและร่องฟัน ถึงจุดลึกสุดของหลุมและร่องฟัน ทั้งในด้านแก้ม และด้านเพดาน (รูปที่ 2) แต่ละค่าที่วัดจะวัด 2 ครั้ง แล้วนำทั้งสองค่ามาหาค่าเฉลี่ย ซึ่งฟันตัวอย่าง 1 ซึ่งจะต้องวัดทั้ง 2 ซีนตัวอย่าง แต่ละซึ่นอย่างจะต้องวัดทั้ง 2 ด้าน ได้แก่ ด้านใกล้กลาง และด้านไกลกลาง ดังนั้นฟันตัวอย่าง 1 ซึ่ง จะต้องวัดทั้งหมด 4 ด้าน แล้วนำค่าที่ได้จากซึ่นตัวอย่างทั้ง 2 ซึ่น มาหาค่าเฉลี่ยร้อยละของการแทรกซึมของสีย้อม ได้เป็นค่าเฉลี่ยร้อยละของการแทรกซึมของสีย้อมเมทิลีนบลูในฟันตัวอย่าง 1 ซึ่ง (รูปที่ 3)

การทดสอบความเที่ยงตรงของผู้วัดการแทรกซึมของสีย้อม โดยการสุ่มกลุ่มตัวอย่างเพื่อนำมาวัดซ้ำร้อยละ 10 ของการวัดแต่ละครั้ง และผู้วัดถูกบดบัง (single blinding) จะไม่ทราบค่า กำลังทำการวัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวัสดุชนิดใด จากนั้นไปทดสอบความเที่ยงตรงของผู้วัด (intra-examiner reliability) โดยใช้สถิติสหสัมพันธ์ภายในซึ่น (intraclass correlation coefficient) พบว่า ได้ค่าความเที่ยงตรงของผู้วัดเท่ากับ 0.98

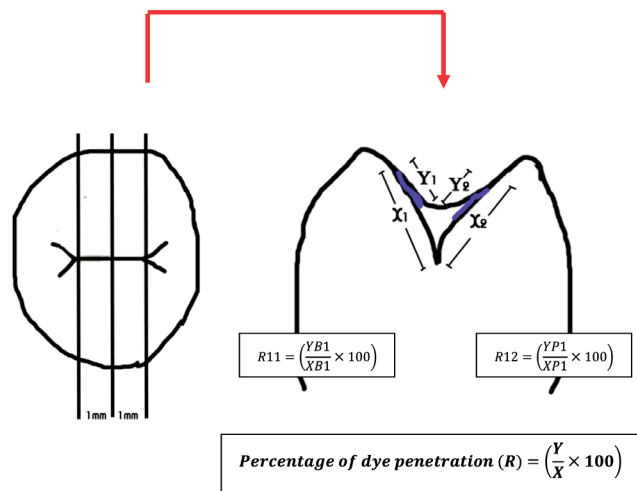
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การแสดงผลสถิติพรรณนา แสดงค่ามัธยฐาน ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุดของการแทรกซึมของสีย้อมเมทิลีนบลูตามขอบของสารผนึกหลุมและร่องฟัน เนื่องจากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ ดังนั้นการศึกษาคครั้งนี้ จึงมีการวิเคราะห์ค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยร้อยละการแทรกซึมของสีย้อมเมทิลีนบลูตามขอบของสารผนึกหลุมและร่องฟันทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่างด้วยสถิติครัสคัล-วอลลิส ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หลังจากนั้น มีการเปรียบเทียบค่ามัธยฐาน



รูปที่ 2 ภาพถ่ายลักษณะซึ่นตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ กำลังขยาย 30 เท่า

Figure 2 Stereomicrograph of the specimen at magnification of 30X



รูปที่ 3 การวัดรอยซึมเล็กในซึ่นตัวอย่าง 1 ด้าน

X = ระยะจากขอบของสารผนึกหลุมและร่องฟันถึงจุดลึกสุดของหลุมและร่องฟัน

Y = ระยะการแทรกซึมของสีย้อมจากขอบของสารผนึกหลุมและร่องฟัน

Figure 3 Microleakage measurement on one side of the specimen

X = distance from sealant margin to the deepest point of pit and fissure

Y = distance of dye penetration from sealant margin

ทีละคู่ด้วยสถิติแมนวิทนี ยู ที่ระดับนัยสำคัญ 0.0167 โดยปรับค่านัยสำคัญด้วยวิธีบอนเฟอร์โรนี (Bonferroni adjustment)

ผล

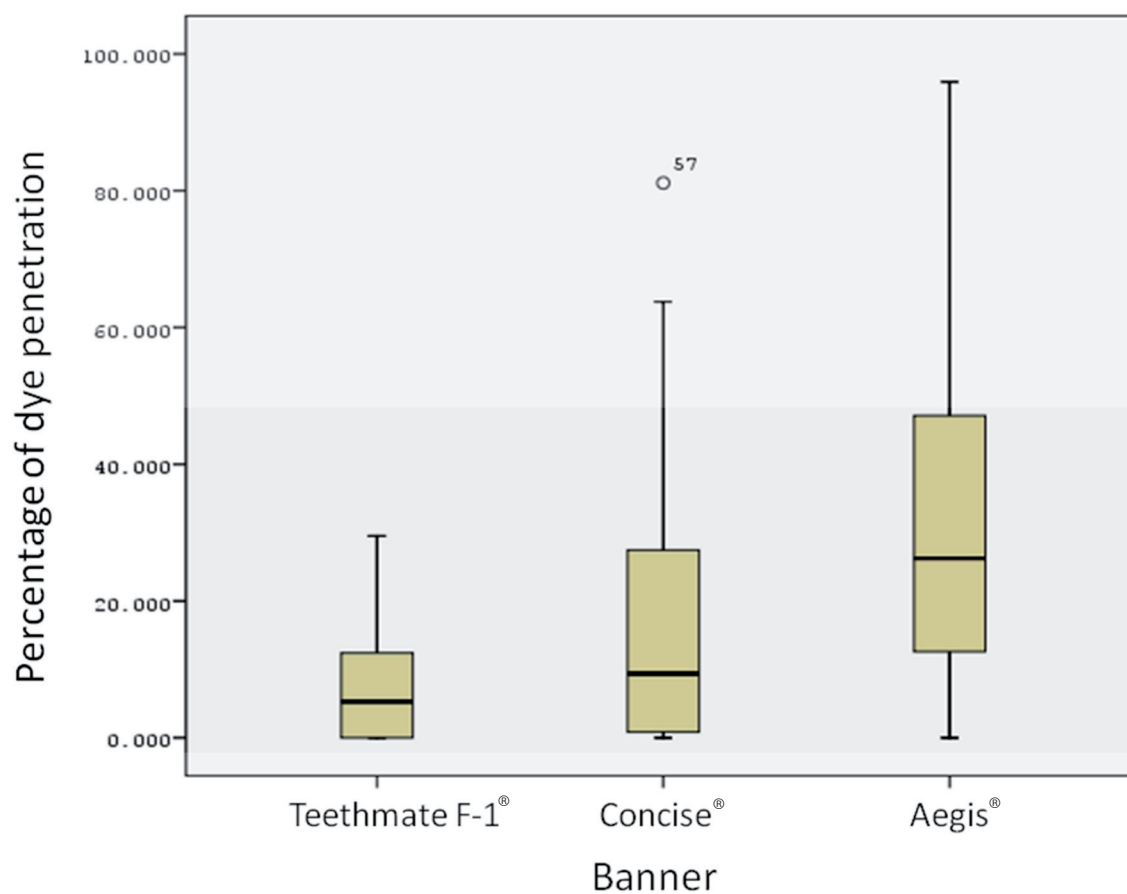
จากการวัดการแทรกซึมของสีย้อมเมทิลีนบลูตามขอบของสารผนึกหลุมและร่องฟันทั้งหมด 90 ซึ่ง โดยสุ่มฟันออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 30 ซึ่ง ด้วยการสุ่มอย่างง่าย แสดงการกระจายของฟันกรามน้อยบนแท้ (ตารางที่ 1) โดยกลุ่มที่ 1 ผนึกหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ (Concise®) กลุ่มที่ 2 ผนึกหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ (Teethmate F-1®) และกลุ่มที่ 3 ผนึกหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี (Aegis®) ผลการศึกษาพบว่า ค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยร้อยละการแทรกซึมของสีย้อมเมทิลีนบลูตามขอบของสารผนึกหลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี มีค่ามากที่สุด คือ 26.23 ชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์มีค่า 9.37 ส่วนชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ มีค่าน้อยที่สุดคือ 5.28 (ตารางที่ 1) ส่วนค่ามัธยฐานและการกระจายข้อมูลร้อยละของการแทรกซึมใน 3 กลุ่มตัวอย่าง (รูปที่ 4) การวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบมัธยฐานของค่าเฉลี่ยร้อยละการแทรกซึมของสีย้อมเมทิลีนบลูตามขอบของสารผนึกหลุมและ

ตารางที่ 1 จำนวนตัวอย่าง ค่ามัธยฐาน ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุดของร้อยละการแทรกซึมสีย้อมเมทิลีนบลู และจำนวนซี่ฟัน ทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่าง

Table 1 Sample size, median, mean, standard deviation, maximum and minimum percentage of methylene blue dye penetration and number of each tooth type in the 3 sealant groups

Samples	N	Median	Mean	SD	Min	Max	Amount of teeth (N)			
							Tooth 14	Tooth 24	Tooth 15	Tooth 25
Teethmate F-1®	30	5.28	7.05	8.03	0	29.50	6	9	6	9
Concise®	30	9.37*	17.68	21.40	0	81.13	7	7	8	8
Aegis®	30	26.23*	34.07	28.43	0	95.92	7	7	7	9

*significant ($p < 0.01$)



รูปที่ 4 ค่ามัธยฐานและการกระจายข้อมูลร้อยละการแทรกซึมสีของสารผนึกหลุมและร่องฟันใน 3 กลุ่ม

Figure 4 Median and distribution of microleakage percentage of 3 sealant groups

ร่องฟันใน 3 กลุ่มตัวอย่างด้วยสถิติแนพารามิเตอร์ ชนิดครัสคัล-วอลลิส พบว่า ค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยร้อยละการแทรกซึมของสีย้อม เมทิลีนบลูตามขอบของสารฟันนิกลุมและร่องฟันใน 3 กลุ่มตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 20.515$, $p < 0.001$) แสดงว่า มีอย่างน้อย 1 คู่ที่มีความแตกต่างกัน หลังจากนั้น ทดสอบความแตกต่างค่ามัธยฐานร้อยละการแทรกซึมของสีย้อมเมทิลีนบลู ตามขอบของสารฟันนิกลุมและร่องฟัน มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างการใช้สารฟันนิกลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ กับชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ ($p = 0.082$) ส่วนการใช้สารฟันนิกลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี กับชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ และระหว่างชนิดเรซินที่มีเอซีพี กับชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามลำดับ ($p = 0.007$, $p < 0.001$)

บทวิจารณ์

การศึกษานี้ใช้กลุ่มตัวอย่างเป็นฟันกรามน้อยบนแท้ที่ถูกถอน เพื่อการจัดฟันและเก็บรักษาในสารละลายคลอรามินที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผิวเคลือบฟัน²³ และจากการศึกษาของ Pazinato และคณะ เกี่ยวกับการเกิดรอยซึมเล็กตามขอบเมื่อใช้จำนวนรอบของเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบร่อนเย็นเป็นจังหวะที่แตกต่างกัน โดยผลการศึกษาพบว่า ไม่ว่าจะใช้จำนวนรอบของเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบร่อนเย็นเป็นจังหวะเท่ากับ 500 1,000 2,500 หรือ 5,000 รอบ ก็ให้ผลของรอยซึมเล็กตามขอบแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ²⁴ รวมไปถึงเกณฑ์ของ ISO/TS 11405 กำหนดจำนวนรอบของเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบร่อนเย็นเป็นจังหวะเท่ากับ 500 รอบ²⁰ ดังนั้นการศึกษานี้จึงนำฟันไปแช่ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบร่อนเย็นเป็นจังหวะจำนวน 500 รอบ เพื่อจำลองสภาวะอุณหภูมิร่อนเย็นในช่องปาก ส่วนสีย้อมที่ใช้ในการทดลอง เพื่อวัดรอยซึมเล็กในวัสดุบูรณะมีหลายชนิด ได้แก่ เบสิคฟุคซิน (basic fuchsin) เมทิลีนบลู (methylene blue) อีโอซิน (eosin) อะนิลีนบลู (aniline blue) คริสตัลไวโอเลต (crystal violet) และ อิริโทรซินบี (erythrosin B)²⁵ สำหรับงานวิจัยนี้ เลือกใช้สารละลายสีย้อมเมทิลีนบลูในการแช่ฟันเพื่อทดสอบรอยซึมเล็กตามขอบของสารฟันนิกลุมและร่องฟัน เนื่องจากสีย้อมนี้เป็นที่นิยมใช้และมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าอนุภาคของแบคทีเรีย^{22,26}

จากผลการศึกษานี้ การเปรียบเทียบรอยซึมเล็กตามขอบระหว่างสารฟันนิกลุมและร่องฟัน 3 ชนิด คือ ชนิดเรซินที่มีเอซีพี ชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ และชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ พบว่า ชนิดเรซินที่มีเอซีพีที่มีค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยร้อยละการแทรกซึมของสีย้อมเท่ากับ 26.23 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชนิดเรซินที่มี

ฟลูออไรด์ที่มีค่ามัธยฐานของค่าเฉลี่ยร้อยละการแทรกซึมของสีย้อมเท่ากับ 5.28 ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาของ Marks และคณะในปี ค.ศ. 2009 ที่ทำการเปรียบเทียบสารฟันนิกลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี (Aegis®) และชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ (Conseal f®, Admira seal®) ซึ่งพบว่า ชนิดเรซินที่มีเอซีพีมีการรอยซึมเล็กตามขอบน้อยกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.003$) โดยชนิดเรซินที่มีเอซีพีจะมีค่ารอยซึมเล็กน้อยที่สุด¹⁵ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Selecman และคณะในปี ค.ศ. 2007 ที่เปรียบเทียบการเกิดรอยซึมเล็กในสารฟันนิกลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีเอซีพี (Aegis®) สารฟันนิกลุมและร่องฟันชนิดเรซินที่มีฟลูออไรด์ (Admira Seal®, Conseal f®) และชนิดเรซินที่ไม่มีฟลูออไรด์ (Delton®) โดยพบว่า ชนิดเรซินที่มีเอซีพี มีค่าเฉลี่ยรอยซึมเล็กตามขอบน้อยที่สุด¹⁶ อย่างไรก็ตาม รอยซึมเล็กมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง เช่น การเปลี่ยนแปลงมิติของวัสดุจากการหดตัวจากปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization shrinkage) การหดตัวของวัสดุเนื่องจากอุณหภูมิ (thermal contraction) การดูดซึมน้ำ (absorption of water) ความเครียดเชิงกล (mechanical stress) และการเปลี่ยนแปลงเชิงมิติ (dimensional changes) ในโครงสร้างฟัน โดยผลจากการศึกษาครั้งนี้ แตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ อาจเป็นเพราะชนิดของสารฟันนิกลุมร่องฟันที่แตกต่างกันโดย Admira Seal® และ Delton® มีโมโนเมอร์หลักเป็น Bis-phenol A diglycidyl ether dimethacrylate (BIS-GMA)^{28,29} ส่วน Aegis® และ Conseal f® มีโมโนเมอร์หลักเป็น Urethane dimethacrylate (UDMA)³⁰ แต่การศึกษานี้ใช้ Teethmate F-1® ซึ่งโมโนเมอร์หลักเป็น Triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA)³¹ ซึ่งเป็นโมโนเมอร์ที่มีความหนืดต่ำ (low viscosity monomer) และต่ำกว่า BIS-GMA และ UDMA จึงมีผลต่อความหนืด และการไหลแผ่ของวัสดุตามหลุมและร่องฟัน^{4,32,33} นอกจากนี้ ยังพบว่า ปริมาณวัสดุอุดแทรกที่มีอยู่ในสารฟันนิกลุมและร่องฟัน จะมีผลเพิ่มความแข็งแรงของวัสดุ การหดตัวและการดูดซึมน้ำน้อยลง แต่ขณะเดียวกันจะทำให้วัสดุมีความหนืดสูงขึ้น (high viscosity) และมีผลทำให้การแทรกซึมและการไหลลดน้อยลง⁴ ซึ่งก็พบว่า Aegis® มีการเติมวัสดุอุดแทรก ส่วน Teethmat F-1® ไม่มีการเติมวัสดุอุดแทรก จากเหตุผลดังกล่าวผู้วิจัยจึงคิดว่า น่าจะเป็นสาเหตุให้การศึกษานี้ให้ค่ารอยซึมเล็กตามขอบของ Teethmat F-1® มีค่าน้อยกว่า Aegis® อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)

ข้อจำกัดของการศึกษานี้ ถึงแม้ผู้วิจัยจะพยายามควบคุมการศึกษารายละเอียด โดยให้ผู้ทำการฟันนิกลุมและร่องฟันเป็นคนละคนกับผู้วัดการแทรกซึมของสีย้อม เนื่องจากสีของวัสดุฟันนิกลุมและร่องฟันทั้งสามชนิดนั้นมีความแตกต่างกัน การควบคุมผู้วัดให้ถูกปกปิด (single blinding) อาจจะไม่สมบูรณ์

อย่างไรก็ตาม การพิจารณาคุณสมบัติเกี่ยวกับการเกิดรอยซึมเล็ก เป็นเพียงข้อพิจารณาหนึ่งในการเลือกใช้สารฟันนิกลุมและร่องฟันเท่านั้น ซึ่งในทางปฏิบัติในคลินิกแล้ว ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่จำเป็นต้องพิจารณาร่วมในการเลือกใช้วัสดุด้วย เช่น ความแข็งแรง การยึดติด

ของวัสดุ ลักษณะกายวิภาคของฟัน เวลาที่ใช้ ขั้นตอนการทำงาน ในคลินิก ใช้ง่าย รวมถึงค่าใช้จ่าย ซึ่งเป็นสิ่งที่ทันตแพทย์จำเป็นต้องพิจารณาในการเลือกใช้วัสดุ และการศึกษาเป็นเพียงการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดรอยซึมเล็ก ตามขอบของวัสดุฉนวนและร่องฟันได้ แตกต่างจากการทำวิจัยในคลินิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งความร่วมมือของผู้ป่วย สภาวะอนามัยช่องปากของผู้ป่วย การควบคุมความชื้น โดยเฉพาะการปนเปื้อนน้ำลาย เป็นต้น ดังนั้นหากมีการศึกษาต่อไปในอนาคต ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเกิดรอยซึมเล็กของวัสดุทั้ง 3 ชนิดนี้ในทางคลินิก และควรศึกษาถึงปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเกิดรอยซึมเล็กด้วย เพื่อใช้เป็นข้อพิจารณาหนึ่งในการเลือกใช้สารฉนวนและร่องฟันต่อไป

บทสรุป

สารฉนวนและร่องฟันเรซินที่มีเอซีพี มีผลให้เกิดการแทรกซึมของสีย้อมเมทิลีนบลูตามขอบของสารฉนวนและร่องฟันได้มากกว่าสารฉนวนและร่องฟัน ชนิดเรซินที่มีและไม่มีฟลูออไรด์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. บัณฑิต ถิ่นคำพร และผศ.ดร.วราวุธ ปิติพัฒน์ ที่ให้คำแนะนำ ข้อมูลทางสถิติและขอขอบพระคุณบุคลากรห้องปฏิบัติการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ให้ความช่วยเหลืองานวิจัยครั้งนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Batchelor PA, Sheiham A. Grouping of tooth surfaces by susceptibility to caries: a study in 5-16 year-old children. *BMC Oral Health* 2004;4:1-6.
- Carvalho JC, Ekstrand KR, Thylstrup A. Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. *J Dent Res* 1989;68:773-9.
- Simonsen RJ. Pit and fissure sealant: review of the literature. *Pediatr Dent* 2002;24:393-414.
- Harnirattisai C. Tooth coloured restorative materials; Resin composite, glass ionomer, polyacid modified resin composite, resin pit fissure sealants. In: Su-chatlam pong C, Suputtamongkol K, Urapepon S, Kanchanasavita W, editors. Fundamental of dental biomaterials 1. Faculty of dentistry, Mahidol university; 2009. p. 141-157. (Thai Version)
- Kidd EA. Microleakage: a review. *J Dent* 1976;4:199-206.
- Morphis TL, Tumba KJ, Lygidakis NA. Fluoride pit and fissure sealants: a review. *Int J Paediatr Dent* 2000;10:90-8.
- Garcia-Godoy F, Abarzua I, De Goes MF, Chan DC. Fluoride release from fissure sealants. *J Clin Pediatr Dent* 1997;22:45-9.
- Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res* 2008;42:88-97.
- Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 1998;18:8-16.
- Kargul B, Altinok B, Welbury R. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel surface rehardening. An *in vitro* study. *Eur J Paediatr Dent* 2012;13:123-7.
- Skrtic D, Hailer AW, Takagi S, Antonucci JM, Eanes ED. Quantitative assessment of the efficacy of amorphous calcium phosphate/methacrylate composites in remineralizing caries-like lesions artificially produced in bovine enamel. *J Dent Res* 1996;75:1679-86.
- Rahiotis C, Vougiouklakis G, Eliades G. Characterization of oral films formed in the presence of a CPP-ACP agent: an *in situ* study. *J Dent* 2008;36:272-80.
- Sen Tunc E, Bayrak S, Tuloglu N, Ertas E. Evaluation of microtensile bond strength of different fissure sealants to bovine enamel. *Aust Dent J* 2012;57:79-84.
- Silva KG, Pedrini D, Delbem AC, Ferreira L, Cannon M. In situ evaluation of the remineralizing capacity of pit and fissure sealants containing amorphous calcium phosphate and/or fluoride. *Acta Odontol Scand* 2010;68:11-8.
- Marks D, Owens BM, Johnson WW. Effect of adhesive agent and fissure morphology on the *in vitro* microleakage and penetrability of pit and fissure sealants. *Quintessence Int* 2009;40:763-72.
- Selecman JB, Owens BM, Johnson WW. Effect of preparation technique, fissure morphology, and material

- characteristics on the *in vitro* margin permeability and penetrability of pit and fissure sealants. *Pediatr Dent* 2007;29:308-14.
17. Vinay C, Prabhakar AR, Raju OS. Laser and visible light cured pit and fissure sealants-comparison of micro-leakage at enamel-sealant interface: an *in vitro* study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2002;20:30-6.
 18. Park K, Georgescu M, Scherer W, Schulman A. Comparison of shear strength, fracture patterns, and microleakage among unfilled, filled, and fluoride-releasing sealants. *Pediatr Dent* 1993;15:418-21.
 19. Michalaki MG, Oulis CJ, Lagouvardos P. Microleakage of three different sealants on sound and questionable occlusal surfaces of permanent molars: an *in vitro* study. *Eur Arch Paediatr Dent* 2010;11:26-31.
 20. International organization for standardization. [monograph on website] ISO/TS 11405. Dental materials-Testing of adhesion to tooth structure 2003. [update 2012 August 1; cited 2013 Jul 11] Available from: HYPERLINK "http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=31486"
 21. Lott JR, Fitchie JG, Creasy MO, Puckett AD, Jr. Microleakage of three conventional glass ionomers using 45Ca and methylene blue. *Gen Dent* 2007;55:15-8.
 22. Yavuz I, Aydin H, Ulku R, Kaya S, Tumen C. A new method: measurement of microleakage volume using human, dog and bovine permanent teeth. *Electron J Biotechnol* 2006;9:8-17.
 23. Titley KC, Chernecky R, Rossouw PE, Kulkarni GV. The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. *Arch Oral Biol* 1998;43:305-11.
 24. Pazinato FB, Campos BB, Costa LC, Atta MT. Effect of the number of thermocycles on microleakage of resin composite restorations. *Pesqui Odontol Bras* 2003;17:337-41.
 25. Gonzalez NAG, Kasim NHA, Aziz RD. Microleakage Testing. *Annals of Dentistry* 1997;4:31-7.
 26. Fabianelli A, Pollington S, Davidson CL, Cagidiaco MC, Goracci C. The relevance of micro-leakage studies. *International Dentistry SA* 2007; 9:64-74.
 27. Staninec M, Mochizuki A, Tanizaki K, Jukuda K, Tsuchitani Y. Interfacial space, marginal leakage, and enamel cracks around composite resins. *Oper Dent* 1986;11(1):14-24.
 28. VOCO Australia. VOCO Material safety Data Sheet: Admira Seal. [document on website] [update 8 February 2007; cited 2013 Jul 11]. Available from: HYPERLINK "<http://www.henryschein.com.au/documents/MSDS/VOCO/AdmiraSeal.pdf>."
 29. Dentsply Canada Ltd. Material safety Data Sheet: Delton pit & fissure sealant. [document on website] [update 2005 March 16; cited. 2013 Jul 11]. Available from: HYPERLINK "<http://www.dentsply.ca/media/c9761b00ca07a790f2d62a49e73cdfcfsafety.pdf>."
 30. Harry J. Bosworth Company. Material safety Data Sheet: Aegis pit & fissure sealant. [document on website] [update 2011 July 10; cited. 2013 Jul 11]. Available from: HYPERLINK "<http://www.henryschein.ca/MSDS/105D693.pdf>."
 31. Kuraray American, Inc. Material safety data sheet: Teethmate F-1® (Opaque). [document on website] [update 2012 July 5; cited. 2013 Jul 11]. Available from: HYPERLINK "<http://www.kuraraydental.com/msds/item/teethmate-f-1-opaque-msds-usa>."
 32. Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Effect of chemical structure on degree of conversion in light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials* 2002;23:1819-29.
 33. Floyd CJ, Dickens SH. Network structure of Bis-GMA- and UDMA-based resin systems. *Dent Mater* 2006; 22:1143-9.