

Indice

Introduzione.....	2
Capitolo 1.....	4
Capitolo 2.....	28
Capitolo 3.....	34
Capitolo 4.....	39
Capitolo 5.....	48
Capitolo 6.....	52
Conclusioni generali.....	61
<i>Curriculum vitae</i>.....	62

Pubblicazioni..... 63

Introduzione

Scopo della ricerca è stato quello di valutare di alcuni sistemi conservativi ed endodontici in un paziente disabile e scarsamente collaborante.

Questa è una tipologia di pazienti che presentano determinate caratteristiche cliniche e comportamentali. Generalizzando potremmo affermare che in pazienti che presentano disabilità si possono riscontrare le seguenti caratteristiche:

- scarsa collaborazione
- scarso livello di igiene orale
- pH orale acido

La scarsa collaborazione rende questi pazienti particolarmente difficili da trattare dal punto di vista odontoiatrico. La terapia prevista viene attuata spesso in condizioni di forte limitazione di tempo; questi pazienti infatti vengono trattati attuando una dolce costrizione quando possibile o in anestesia generale e i tempi operativi sono quindi estremamente ristretti. Si è quindi sempre più alla ricerca di tecniche che possano risultare rapide ed efficaci.

Negli ultimi anni molte ditte produttrici di adesivi dentinali hanno immesso sul mercato negli ultimi anni sistemi semplificati per rispondere alle esigenze degli operatori. La prima parte della presente indagine è stata quindi volta alla valutazione

di questi nuovi materiali, i cosiddetti sistemi adesivi *all in one*, per capire se essi, per le loro caratteristiche semplificate, potevano essere impiegati con successo nei soggetti non collaboranti migliorando la qualità e quindi la durata dei restauri conservativi eseguiti.

Nella presente trattazione dopo una *review* sugli adesivi dentinali, si è andati a verificare la permeabilità, la dissoluzione e la forza di adesione degli adesivi *all in one* mediante tecnica delle repliche e prima e dopo trattamento demineralizzante.

E' stato inoltre valutato un altro sistema conservativo rappresentato dai cementi vetro-ionomeri. Per le loro caratteristiche di rilascio di fluoro possono essere considerati estremamente utili in pazienti che presentano spesso uno scarso livello di igiene orale e, di conseguenza, un basso pH orale e forte cariorecettività. E' quindi stato valutato il rilascio e la capacità di ricarica di ioni fluoro ed è stata effettuata l'analisi morfologica di questi materiali in ambiente acido.

Capitolo 1

AGGIORNAMENTO MONOGRAFICO

ADESIONE E ADESIVI FRA RICERCA E CLINICA: STATO DELL'ARTE

Gian Luca Acquaviva*, Lorenzo Breschi**, Roberto Di Leonardo**, Gabriela Piana*,
Stefano Chersoni*, Carlo Prati*

**Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche*

***Università di Trieste, UCO di Odontostomatologia*

Negli ultimi anni la ricerca si è impegnata per studiare e migliorare le metodiche di adesione alle strutture dentarie. Lo sviluppo delle tecniche e dei materiali si è fatto via via più intenso e le generazioni di sistemi adesivi si sono succedute sempre più rapidamente. Infatti le tecniche adesive combinate con l'uso di materiali restaurativi estetici sono tra le richieste più frequenti dei pazienti.

L'odontoiatria conservativa moderna si basa sul concetto di minima invasività¹, che comporta la rimozione del solo tessuto dentario cariato e la ricostruzione con un materiale da restauro che viene a sua volta direttamente legato al rimanente tessuto sano.

Le resine composite, da sole, hanno una scarsa capacità nella chiusura marginale, in quanto si contraggono durante la polimerizzazione^{2,3}. Si identifica quindi la necessità di interporre un materiale tra la struttura dentaria residua e la resina composita che racchiuda in sé allo stesso tempo caratteristiche di elasticità e di adesione con i substrati con cui va a legarsi². A questo proposito sono nati i sistemi adesivi smalto-dentinali (comunemente denominati anche adesivi dentinali

o *dentin bonding agent*) che hanno avuto una travolgente evoluzione dal loro primo apparire, attorno agli anni 1983-84, fino a diventare i materiali più studiati, citati e soprattutto più utilizzati nella attività clinica quotidiana.

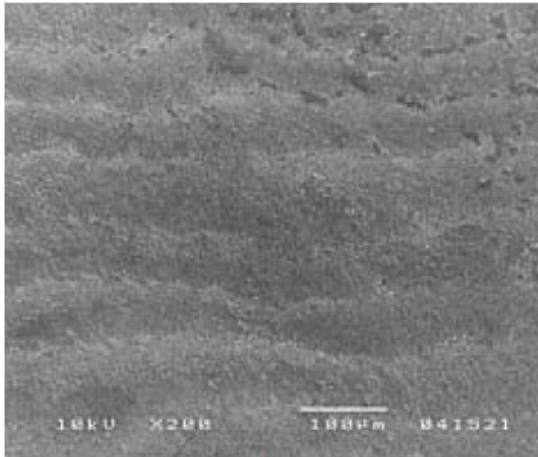
Recentemente è stato coniato il termine di *silent revolution* o rivoluzione silenziosa riguardo alla graduale comparsa di tecniche adesive nella pratica clinica⁴. Effettivamente il concetto di odontoiatria adesiva è stato sviluppato solo in seguito all'introduzione dei sistemi adesivi (SA).

Le tecniche di utilizzo operativo non risultano di facile impiego e richiedono una serie di conoscenze relative alla morfologia ultrastrutturale della dentina e dello smalto senza le quali è difficile ipotizzare un impiego appropriato di questi materiali.

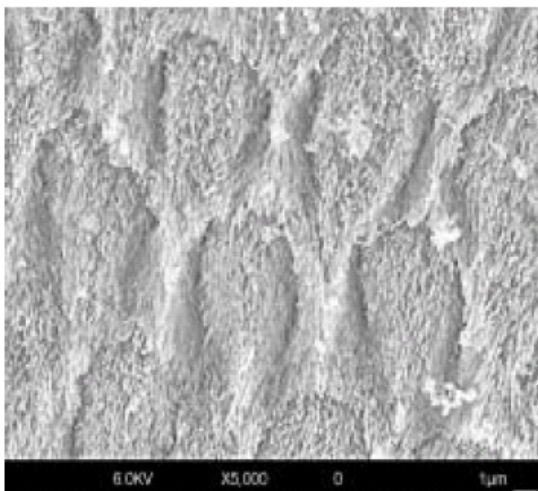
PRINCIPI DI ADESIONE ALLA STRUTTURA DENTARIA

L'adesione è il meccanismo che mantiene due materiali in intimo contatto attraverso la formazione di un'interfaccia² e permette non solo un legame, ma anche la possibilità di distribuire le forze. Il motivo fonda-

mentale che ci spinge a parlare di adesione al substrato dentario in conservativa è il fatto che il tessuto perso del dente deve essere sostituito con materiale composito, che di per sé non ha affinità per il tessuto dentario stesso⁵. Il dente infatti è un substrato altamente idrofilo, mentre il materiale da restauro è generalmente idrofobo (soprattutto le resine composite). Il processo di adesione al substrato dentario racchiude due fasi: la prima fase consiste nella rimozione di calcio-fosfati e nella successiva esposizione di microporosità superficiali a livello sia dello smalto che della dentina. La seconda fase, detta anche di ibridizzazione, prevede l'infiltrazione e la successiva polimerizzazione *in situ* della resina nelle microporosità precedentemente create¹. Si crea quindi una interconnessione micro-meccanica che è basata in prima istanza sul meccanismo di diffusione della resina idrofila. Il potenziale beneficio di un'addizionale interazione chimica tra i monomeri funzionali e i componenti del substrato dentario risulta poi utile per ottenere un'aumentata adesione. Il processo di infiltrazione culmina nella formazione dello strato ibrido, una zona di interdiffusione tra resina e dente⁶ che garantisce il sigillo del restauro.



1. Immagine al SEM di smalto non trattato (200×).



2. Immagine al SEM ad alta risoluzione di smalto mordenzato per 30 secondi con acido ortofosforico al 37%. La sostanza interprismatica è stata ampiamente rimossa, mentre permangono relativamente intatti i prismi dello smalto (5000×).

RUOLO E FUNZIONI DEI SISTEMI ADESIVI

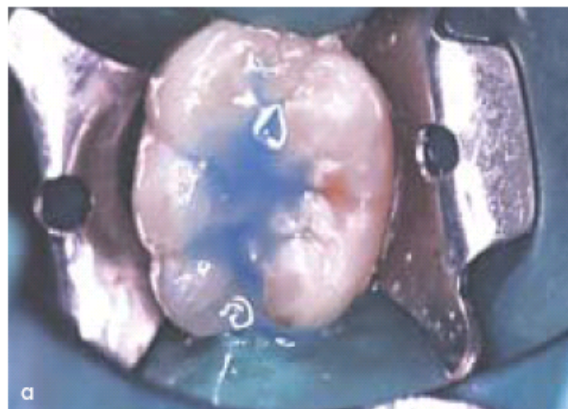
- Adesione micromeccanica del composito/compomero alle strutture del dente (smalto e dentina)
- Guida e opposizione alla contrazione da polimerizzazione del composito
- Sigillo e impermeabilizzazione dei tessuti

TABELLA 1

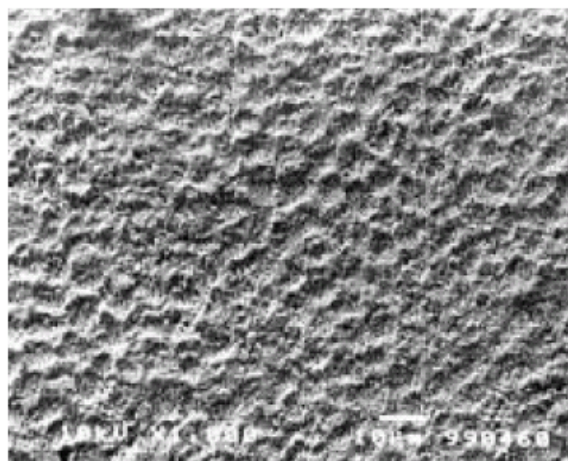
I compiti dello strato di adesivo sovrastante lo strato ibrido sono quindi preservare l'integrità della dentina ibridizzata, proteggendola anche dallo stress da contrazione della resina composita, e fungere da strato assorbente gli stress (tabella 1). L'adesivo quindi contribuisce a migliorare e mantenere la forza di adesione, garantendo legame e sigillo nel tempo⁷. Non si può non tenere conto, naturalmente, delle differenze presentate dai substrati smalto e dentina nei meccanismi di adesione¹. Verranno quindi esaminati più nello specifico questi due aspetti.

ASPETTI MORFOLOGICI DELLO SMALTO CORRELATI ALL'ADESIONE

Lo smalto è principalmente formato da sostanza inorganica altamente mineralizzata (95% in peso, quasi interamente idrossiapatite) distribuita in una densa struttura cristallina (figura 1). Da quando Buonocore introdusse nel 1955 la tecnica di mordenzatura acida⁸ mediante acido ortofosforico all'85%, la tecnologia di adesione dentale è andata incontro a una rapida evoluzione. La struttura dello smalto e la possibilità di ottenere una mordenzatura standardizzata su questo substrato fanno sì che



3. a. Fase clinica di mordenzatura con acido ortofosforico al 35%. b. Fase clinica di mordenzatura con acido maleico al 10%. L'utilizzo dell'acido maleico per mordenzare lo smalto non ha dato risultati clinici soddisfacenti.



4. Immagine SEM di superficie smaltea trattata con sistema adesivo di tipo self-etching. I prismi dello smalto risultano ancora intatti (1000x).

la tecnica di Buonocore, modificata nel corso degli anni, costituisca comunque un punto di riferimento per l'adesione allo smalto.

La procedura di mordenzatura produce un complesso tridimensionale sulla superficie smaltea (figura 2), aumentando non solo l'area di adesione disponibile, ma anche l'energia libera della superficie, che a sua volta aumenta la bagnabilità e la capacità

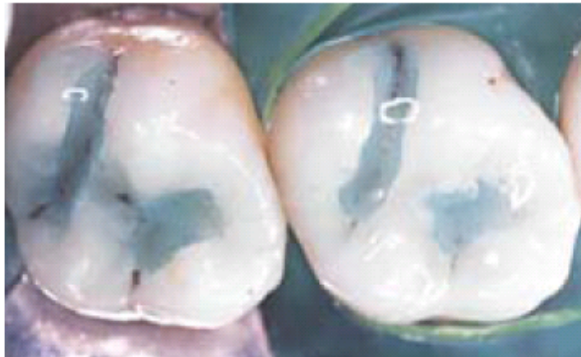
di adesione⁸. La resina adesiva può, in questo modo, penetrare più agevolmente nelle irregolarità di superficie create dalla mordenzatura e creare una buona adesione. L'acido ortofosforico, a una concentrazione che varia dal 30 al 40%, applicato dai 15 ai 30 secondi, produce una buona ritenzione con la resina. Mordenzanti alternativi (come ad esempio acido maleico, EDTA, figura 3 a, b) asso-

ciati con gli adesivi dentali di cosiddetta "terza generazione" non producono un substrato ottimale per l'adesione allo smalto^{9,10}.

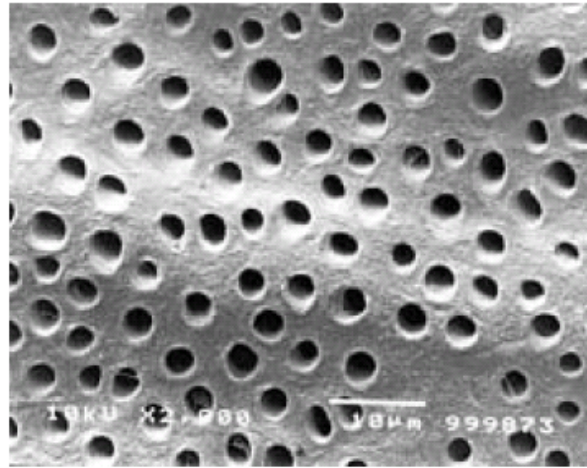
Recentemente, prodotti di tipo *self-etch* sono stati proposti come alternativa alla tecnica *etch & rinse*, ovvero all'applicazione di un agente mordenzante e successivo lavaggio (figura 4). La capacità di questi sistemi adesivi di produrre un'adesione resina-smalto ottimale è ancora dibattuta^{11,12}, ma recenti risultati sembrano essere comunque incoraggianti¹³⁻¹⁵.

ASPETTI MORFOLOGICI DELLA DENTINA CORRELATI ALL'ADESIONE

La dentina è un tessuto organico intrinsecamente umido, attraversato da un labirinto tubulare che contiene i processi odontoblastici, a loro volta in comunicazione con la polpa¹⁶. La composizione della dentina in peso è data per il 70% da materiale inorganico (principalmente idrossiapatite), per il 18% da materiale organico (collagene e altri composti non collagenici) e per il 12% da acqua¹⁷. È quindi un sub-



5. Tipico aspetto clinico della dentina dopo rimozione della lesione cariosa. Permangono isole di dentina sclerotica pigmentata e isole di dentina sana, integra.

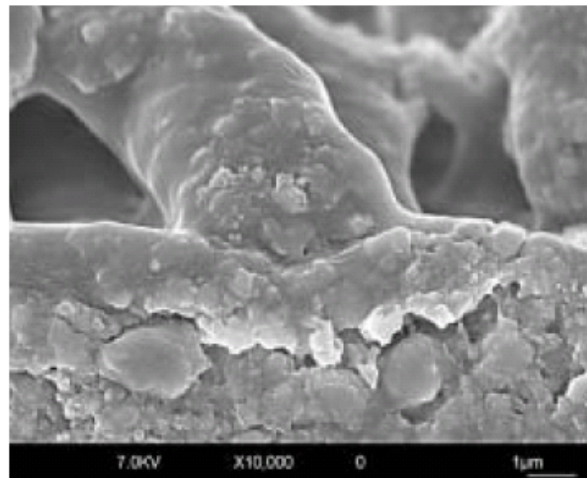


6. Immagine al SEM della dentina dopo mordenzatura con acido ortofosforico al 37%. Si nota l'assenza dello smear layer e l'esposizione delle fibre collagene (2000x).

strato ad alto grado di mineralizzazione. Tuttavia la distribuzione in volume dei suoi componenti (50% di materiale inorganico e 50% di materiale organico e acqua)¹⁷ rende la dentina un substrato problematico, in quanto altamente idrofilo, riguardo all'adesione a resine adesive altamente idrofobe¹⁸.

Sia la clinica che gli studi morfologici hanno ampiamente dimostrato che esistono vari tipi di dentina, che possono essere identificati come: sclerotica, subcariosa, ipermineralizzata ecc., che costituiscono, nella realtà clinica, il tipico substrato (figura 5).

È noto che la mordenzatura mediante l'uso di acidi (generalmente acido ortofosforico al 30-40%) rimuove in parte o interamente lo smear layer¹⁹. Con questo termine è indicato quello strato amorfo di spessore variabile e compreso tra 1 e 5 µm, composto da detriti organici e inorganici denaturati, contaminanti non specifici e batteri, che si forma per azione di strumenti manuali o rotanti sulla superficie del dente durante l'esecuzione di una cavità. La stessa manovra di taglio



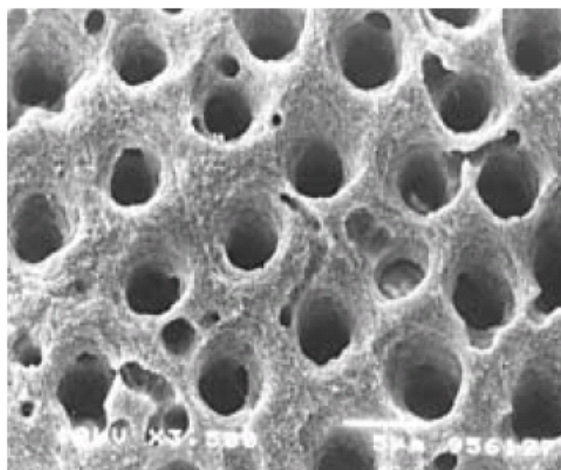
7. Immagine al SEM ad alta risoluzione raffigurante lo strato ibrido di un restauro in resina composita dopo rimozione della dentina (10000x).

determina all'orifizio dei tubuli la formazione di "tappi", definiti *smear plug*, determinati dalla entrata dei detriti durante la strumentazione²⁰. Oltre alla rimozione dello smear layer, la mordenzatura acida permette di demineralizzare qualche micron

di dentina integra (la porzione apatitica inorganica) (figura 6), lasciando pressoché intatte le fibre collagene, che risultano infatti resistenti agli attacchi acidi dei mordenzanti²¹. La rimozione di tale strato superficiale (apatite dentinale) e l'e-

sposizione dell'intreccio di fibre collagene portano a una superficie dentinale estremamente irregolare con una aumentata energia libera di superficie, sulla quale è possibile ottenere un ancoraggio con le attuali resine adesive¹⁹. La mordenzatura porta anche all'apertura dei tubuli dentinali e dei microcanali dentinali in quanto viene a rimuovere gli *smear plug* formati durante la preparazione del dente²⁰. L'esposizione del collagene consente alla resina di avere a disposizione un numero elevatissimo di fibre collagene e proteoglicani tra cui insinuarsi, infiltrarsi e polimerizzare, formando uno strato misto di collagene, resina e, in piccola parte, acqua e apatite residua^{22,23}. La resina deve quindi essere in grado di penetrare velocemente fra le fibre collagene umide ed essere altamente idrofila. La resina idrofila più utilizzata a questo scopo è l'HEMA. La resina agisce quindi come "sigillante", "collante" e "impregnante" chiudendo i pori prodotti dal processo di demineralizzazione acida della mordenzatura²⁴.

Il processo di infiltrazione culmina con la formazione di uno strato definito come "strato ibrido" (*hybrid layer*) (figura 7) o zona di dentina in-



8. Immagine al SEM che mostra la dentina dopo immersione in ipoclorito di sodio. La completa assenza delle fibre collagene comporta una struttura della dentina molto differente dalla struttura con fibre collagene (3500x).

filtrata con resina (*resin-interdiffusion dentin layer*)^{6,25-28}.

Le attuali conoscenze sulle tecniche adesive dicono che lo strato ibrido risulta quindi il punto di forza dell'adesione che, al tempo stesso, può diventare quello debole.

Punto di forza, in quanto la maggior parte dei sistemi adesivi presenta valori di adesione ridotti se, mediante un agente proteolitico (ad esempio ipoclorito di sodio, **figura 8**), vengono rimosse le fibre collagene^{29,30} impedendo quindi l'infiltrazione e la formazione dello strato ibrido stesso.

Punto debole, in quanto recenti studi sull'invecchiamento del legame adesivo hanno dimostrato la parziale degradazione dello strato ibrido già pochi mesi dopo l'esecuzione e l'esposizione nel cavo orale. Un recente studio dimostra infatti come già a distanza di 9 mesi lo strato ibrido di restauri in

composito sia quasi interamente degradato³¹. I motivi di questa rapida degradazione sono molteplici e sono oggetto di studio da parte dei più importanti gruppi di ricerca internazionali.

Differenti ipotesi sono state formulate per spiegare tale degradazione: il *nanoleakage* è uno dei fenomeni maggiormente ritenuti responsabili di tale rapida dissoluzione. Studiando i sistemi adesivi mediante TEM, è stata riscontrata la presenza di zone di infiltrazione di un tracciante specifico (nitrato di argento) nello spessore dello strato ibrido in assenza di un evidente distacco dell'interfaccia. Tale infiltrazione di un agente colorante è stata definita *nanoleakage* in quanto evidente solo mediante tecniche di microscopia ad alta risoluzione come il TEM o il FE-SEM. La penetrazione di un colorante evidenzia pertanto che lo strato ibrido non è

una struttura compatta e pertanto totalmente impermeabile, ma è una struttura caratterizzata da micropori e vuoti, che alcuni Autori definiscono "ibridoide"¹⁹. La non omogeneità dello strato ibrido comporta una progressiva riduzione della forza del legame a causa della degradazione del legame stesso a opera di enzimi idrolitici presenti nella saliva^{32,33}.

CLASSIFICAZIONE DEGLI ADESIVI

Ogni sistema adesivo contiene un agente mordenzante al fine di aumentare l'energia libera di superficie, un agente *primer* per aumentare la bagnabilità del sistema adesivo e un agente *bonding* allo scopo di infiltrare e costituire il legame. Tali composti chimici possono essere differenzialmente combinati al fine di determinare il sistema adesivo.

Vengono qui proposte due classificazioni che, a nostro giudizio, sono le più significative tra le tante esistenti: la prima tiene conto dell'interazione con il substrato e distingue in *total* e *self-etching* e considera i passaggi, *step*, necessari al sistema per stabilire un legame con il sub-

strato³⁴; la seconda è una classificazione in base al solvente³⁵. Per la composizione di alcuni tra i più conosciuti sistemi adesivi si può fare riferimento alla **tabella 2**.

I sistemi adesivi possono essere classificati in due grandi categorie:

- *total (etch & rinse)*;
- *self-etching*.

Il sistema *total etch* prevede l'applicazione di un agente mordenzante allo smalto e alla dentina e il successivo risciacquo al fine di rimuovere l'acido e i sali determinatisi dal processo di demineralizzazione.

Il sistema *self-etching* prevede l'applicazione di un sistema acido seguito da asciugatura: in tal caso l'acido non viene lavato via dalla superficie, ma viene neutralizzato dai sali prodotti durante la demineralizzazione. Ci sono poi dei sottosistemi di queste due categorie a seconda dei passaggi o step utilizzati.

SISTEMI ADESIVI *TOTAL ETCH*

L'obiettivo di tali adesivi risulta quello di rimuovere completamente lo *smear layer* mediante la mordenzatura di smalto e dentina. Il loro impiego è caratterizzato da due o tre passaggi. La fase di mordenzatura risulta separata e sempre seguita da abbondante lavaggio.

COMPOSIZIONE DI ALCUNI SISTEMI ADESIVI		
Sistema adesivo	Componenti	Composizione
Quadrant Unibond	Primer	HEMA, acqua, etanolo, dimetacrilato trietilenglicolo, esteri dell'acido maleico, acidi poliacarbossilici metacrilati, acido maleico, chinolone
	Adesivo	BisGMA, dimetacrilato trietilenglicolo, esteri dell'acido maleico, Ba-AlF-B-silicato vetroso, diossido di silicene, chinolone
Clearfil SE Bond	Self-etching primer	HEMA, dimetacrilato idrofilico, 10-MDP, MDPB, N,N-dietanolo p-toluidina, chinolone, acqua
	Adesivo	Silice silanata, BisGMA, HEMA, dimetacrilato idrofilico, 10-MDP, toluidina, chinolone
iBond	Liquido	Acetone, anidride 4-metacrilossietiltrimetilica, glutaraldeide
Uni-1-Bond	Liquido	UMA, HEMA, etanolo, chinolone, butossietildimetilaminobenzoato, 4-META, metacrilato, acido policarbonico, acqua, acido maleico
Scotchbond 1	Liquido	BisGMA, HEMA, dimetacrilato idrofilico, copolimero dell'acido polialchenoico, etanolo, acqua

TABELLA 2

Gli adesivi *three step* prevedono tre passaggi consecutivi:

- *primo step*: mordenzatura della superficie cavitaria con acidi forti, tipo acido ortofosforico 37%, che sulla superficie dentinale espone i primi 3-5 μm di fibre collagene²³;
- *secondo step*: applicazione del *primer* che contiene monomeri idrofilici polimerizzabili dissolti in un veicolo che può essere acetone, etanolo, e/o acqua. Il veicolo conduce i monomeri attraverso i nanocanali interfibrillari, creati dalla mordenzatura, in modo da rivestire le fibre collagene esposte e sostenerle in luogo dell'apatite rimossa. Questa fase prevede un finale e debole getto d'aria

che favorisce la completa evaporazione del solvente dalla superficie pretrattata che rimane lucida;

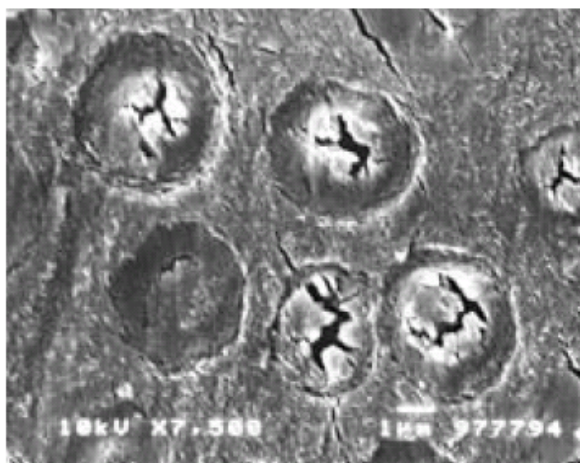
- *terzo step*: applicazione del *bonding* che solitamente è una miscela monomerica idrofobica a cui è affidato il compito di saturare i rimanenti pori intercollagenei con formazione di un *hybrid layer* di dentina rinforzata da resina⁶, e, per via dei tubuli aperti, di formare il *resin tag*. Tali adesivi sono tra i più studiati e permettono di avere elevati valori di adesione³⁶.

Gli adesivi *total etch two step* sottostanno allo stesso principio sulla mordenzatura, ma il secondo e terzo passaggio (*primer* e *bonding*) sono

riuniti. Tali adesivi garantiscono quindi una procedura clinica semplificata; l'unico accorgimento nell'utilizzo clinico di questi adesivi sta in un'applicazione pluristratificata della soluzione³⁷.

SISTEMI ADESIVI *SELF-ETCH*

Appartengono a questo gruppo gli adesivi che non prevedono un lavaggio dopo la fase di mordenzatura, che quindi è combinata a un *primer* e/o a un *bonding*. In tal senso l'applicazione di un sistema adesivo *self-etching* prevede una demineralizzazione di grado inferiore a quella che si ottiene con il tradizionale acido ortofosforico (figura 9) e una contemporanea infiltrazione, non rimuovendo lo *smear layer*, ma infiltrandolo e formando il cosiddetto *modified smear layer*. Questi adesivi sfruttano le caratteristiche acide di *primer* cosiddetti ad attività *self-etching*. Essi agiscono attraverso la parziale dissoluzione dello *smear layer* e la parziale demineralizzazione della superficie dentinale o smaltea sottostante. Il meccanismo di adesione è basato principalmente sulla modificazione della composizione chimica della superficie del substrato (ibridizzazione). Lo strato superficiale di smalto e dentina è parzial-



9. Immagine al SEM di dentina trattata con un sistema self-etching. Lo strato ibrido è stato tagliato trasversalmente identificando i corti resin tag all'interno dei tubuli (7500×).

mente dissolto e la porosità derivante è ricoperta dalla resina³⁸; l'infiltrazione dello *smear layer* a opera dei monomeri acidi è quindi completata attraverso l'applicazione della resina adesiva. La maggiore differenza riscontrabile rispetto ai *total etch* è che la mordenzatura è meno pronunciata sullo smalto e sulla dentina si forma uno strato ibrido di spessore minore (spesso inferiore a 1 µm) e i *resin tag* sono poco pronunciati. Naturalmente i valori variano a seconda del pH delle soluzioni. Particolarmente efficace sulla dentina, questo tipo di ancoraggio lascia alcuni dubbi nell'interfaccia con lo smalto che alcune case produttrici suggeriscono di pre-trattare a parte²⁰ secondo una tecnica di mordenzatura selettiva.

Si distinguono in questo vasto gruppo due ulteriori sottogruppi³⁹: i *two step* e i *single bond all in one*.

I *two step* prevedono appunto due passaggi:

- *primo step*: applicazione di un *primer* con caratteristiche acide che tratti il substrato andando a modificare lo *smear layer* e ad aumentare la bagnabilità di superficie della superficie dentinale;

- *secondo step*: applicazione di un *bonding* che va a infiltrare lo *smear layer* modificato precedentemente.

I sistemi *all in one* racchiudono in un solo passaggio le caratteristiche dei *self-etching*. L'utilizzo dei sistemi *all in one* deriva dall'esigenza di semplificare i passaggi riducendoli di numero e di ridurre il *range* di adesione derivante da una non corretta applicazione⁴⁰.

CLASSIFICAZIONE DEGLI ADESIVI IN BASE AL SOLVENTE O VEICOLO

Questa classificazione è la più importante dal punto di vista clinico e operativo in quanto tiene conto del

tipo di solvente, o veicolo, utilizzato nella formulazione dell'adesivo (tabella 3). La presenza di acetone o di acqua nella composizione del sistema modifica radicalmente la metodica di applicazione ed è quindi fattore che nella pratica occorre tener presente³⁵.

SISTEMI ADESIVI A BASE ACETONICA

La presenza del solvente acetone nella composizione del sistema adesivo comporta una serie di conseguenze:

- abbassa la viscosità della soluzione e quindi facilita la penetrazione del *bonding* nella dentina demineralizzata ricca di collagene⁴¹;
- diminuisce la tensione superficiale dell'acqua e presenta quindi un effetto di *water chasing*⁴¹;
- aumenta la pressione di vapore dell'acqua dando inizio alla rimozione di acqua dalla superficie collagena⁴¹.

Il solvente acetone permette quindi una forte evaporazione dell'acqua presente sulla superficie dentinale. L'applicazione di tali sistemi consente di lasciare una dentina estremamente umida, ovvero ricoperta di un film di acqua ben visibile a occhio nudo (unico sistema

CLASSIFICAZIONE DEGLI ADESIVI IN BASE AL SOLVENTE O VEICOLO UTILIZZATO NEL PRIMER (ADESIVI A PIÙ PASSAGGI) O DIRETTAMENTE NEL BONDING (MONOCOMPONENTI)

- Sistemi adesivi a base acquosa
- Sistemi adesivi a base acetonica
- Sistemi adesivi a base alcolica
- Sistemi adesivi a base mista (alcol-acetone)
- Sistemi adesivi a base mista (alcol-acqua)

TABELLA 3

clinico di valutazione in questo caso) prima di applicare i primi 2-6 strati di acetone/adesivo. È quindi necessaria una applicazione multipla per favorire la sostituzione dell'acqua con l'acetone, veicolo molto più volatile^{37,42}. Un problema che è stato riscontrato deriva appunto dal fatto che l'apertura ripetuta delle confezioni contenenti questi tipi di adesivo diminuisce nel tempo la capacità di adesione di questi composti a causa dell'evaporazione del solvente estremamente volatile⁴³.

SISTEMI ADESIVI A BASE ALCOLICA

Il solvente alcolico volatile permette anche in questo caso (tabella 5) un'evaporazione rapida (ma inferiore a quella che si verifica con acetone) e al tempo stesso consente all'operatore di mantenere una superficie lucida e riflettente, ma nel complesso meno umida. In altri termini l'operatore deve rimuovere l'acqua dalla cavità utilizzando il comune getto d'aria del riunito, cercando al tempo stesso di non rendere la dentina disidratata e quindi opaca, ma viceversa ancora lucente in quanto umida. Il punto di riferimento dello smalto gessoso, quindi, viene completamente

ESEMPI DI SISTEMI ADESIVI A BASE PREVALENTEMENTE ACETONICA

Nome commerciale	Azienda produttrice	Passaggi necessari
All Bond	Bisco, USA	Mordenzatura, primer, bonding
All Bond 2	Bisco, USA	Mordenzatura, primer, bonding
OneStep	Bisco, USA	Mordenzatura, bonding
Prime & Bond 2.0	DentSply, Germany	Mordenzatura, bonding
Prime & Bond 2.1	DentSply, Germany	Mordenzatura, bonding

TABELLA 4

perso, in quanto per ottenere tale aspetto occorre non eccedere con il getto d'aria^{37,42,43}.

SISTEMI ADESIVI A BASE ACQUOSA

A questo gruppo appartengono i sistemi a tre passaggi con mordenzatura totale che possiedono in genere primer acquosi (tabella 6) e che permettono invece di asciugare senza eccessive preoccupazioni la dentina e lo smalto, dopo il lavaggio che segue la mordenzatura. Clinicamente si valuta l'opacità della dentina e l'aspetto gessoso dello smalto mordenzato. Tuttavia, una volta applicato il primer (che deve essere su base acquosa), di nuovo si pone il

problema di quanto asciugare la dentina resa umida (*wet*) dal primer. Di nuovo occorre lasciare una dentina lucida, riflettente e quindi umida. Anche lo smalto deve risultare lucido e non di aspetto gessoso come lo smalto "comunemente" mordenzato.

I VALORI DI ADESIONE ALLA CAVITÀ

Come ben dimostrato, il composito subisce quindi una "tremenda" contrazione volumetrica durante la polimerizzazione (sia polimerizzazione chimica che a luce alogena). Ne consegue che il sistema adesivo uti-

SISTEMI ADESIVI
A BASE PREVALENTEMENTE ALCOLICA

Nome commerciale	Azienda produttrice	Passaggi necessari
Scotchbond 1	3M Espe, USA	Mordenzante, bonding
Excite	Ivoclar-Vivadent, Liechtenstein	Mordenzante, bonding
Syntac Sprint	Ivoclar-Vivadent, Liechtenstein	Mordenzante, bonding
Optibond Solo	Kerr, USA	Mordenzante, bonding

TABELLA 5

SISTEMI ADESIVI A BASE ACQUOSA

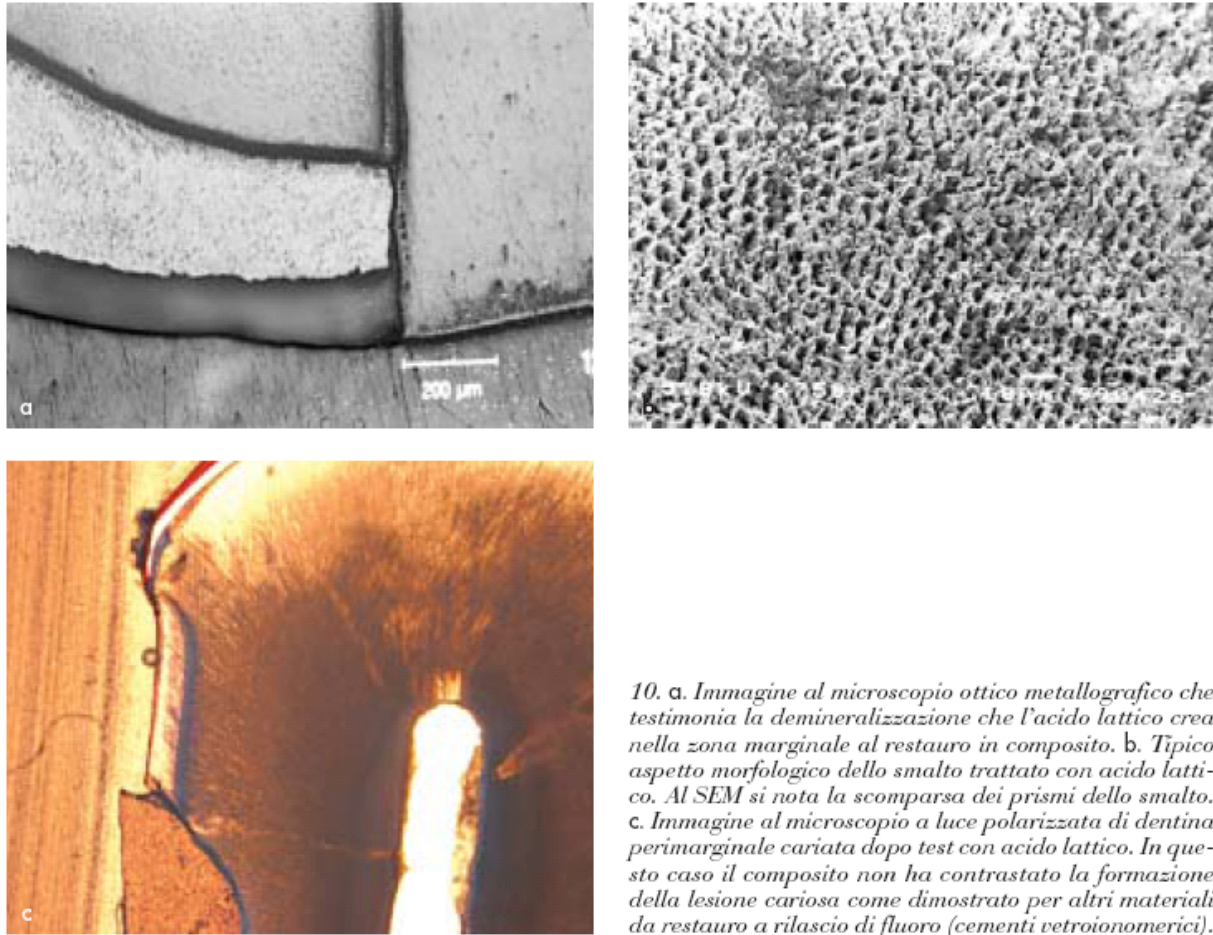
Nome commerciale	Azienda produttrice	Passaggi necessari
Scotchbond MultiPurpose	3M Espe, USA	Mordenzante, primer+bonding
Optibond FL	Kerr, USA	Mordenzante, primer+bonding

TABELLA 6

lizzato in associazione al composito deve avere valori di adesione superiori alla forza di contrazione del composito, ossia superiore allo stress tensile che il materiale fotopolimerizzato esercita sulle pareti della cavità². Su tale contrasto di forze si giocano il formarsi o meno di fessure marginali o *gap* e le conseguenze a esse legate (figura 10 a). Lo stesso discorso vale per i compomeri, i cementi vetroionomerici (figura 10 b, c) e gli altri materiali resinosi, come gli ormocerri, per i quali l'adesivo utilizzato deve sempre avere valori di adesione elevati tanto da impedire il formarsi del *gap* marginale. Se il composito non si contraesse (cioè se la polimerizza-

zione non portasse a un diminuzione di volume) non occorrerebbero gli SA, in quanto sarebbe sufficiente l'adattamento marginale di una vernice e/o *liner* dentinale per proteggere la dentina e mantenere il sigillo⁴⁴. Per quanto riguarda la polimerizzazione e la relativa contrazione della resina bisogna ricordare come la polimerizzazione dipenda non solo dalla lampada, ma anche dalla resina composita⁴⁵.

I test di trazione, trasversale e tensile, sono un chiaro esempio (ottenuto in laboratorio) dei valori di adesione che gli SA sviluppano. Tali test sono considerati una fase di screening in laboratorio per valutare l'efficacia di un SA. Come ben



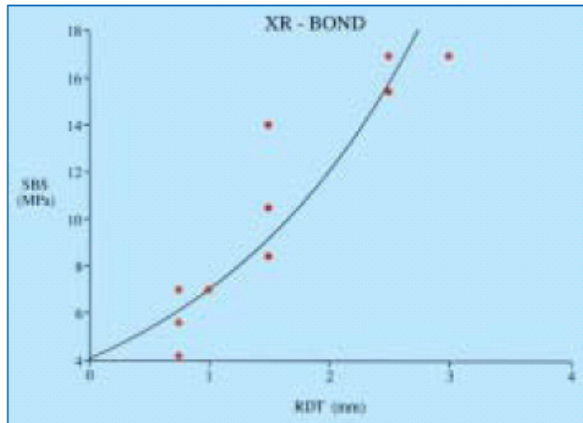
10. a. Immagine al microscopio ottico metallografico che testimonia la demineralizzazione che l'acido lattico crea nella zona marginale al restauro in composito. b. Tipico aspetto morfologico dello smalto trattato con acido lattico. Al SEM si nota la scomparsa dei prismi dello smalto. c. Immagine al microscopio a luce polarizzata di dentina perimarginale cariata dopo test con acido lattico. In questo caso il composito non ha contrastato la formazione della lesione cariosa come dimostrato per altri materiali da restauro a rilascio di fluoro (cementi vetroionomerici).

visibile dai primi studi compiuti negli anni ottanta, gli SA possedevano inizialmente valori di adesione dell'ordine del 2-4 MPa sulla dentina (un MPa equivale a circa 10 kg/cm²), mentre ora numerosi SA raggiungono valori di 12-25 mPa⁴⁶. Interessante è, a questo proposito, la figura 11, che mostra come con la tecnica dei test di trazione si possa valutare anche come varia la forza di adesione a seconda della profondità della dentina. Attualmente i test di trazione sono notevolmente attendibili e consen-

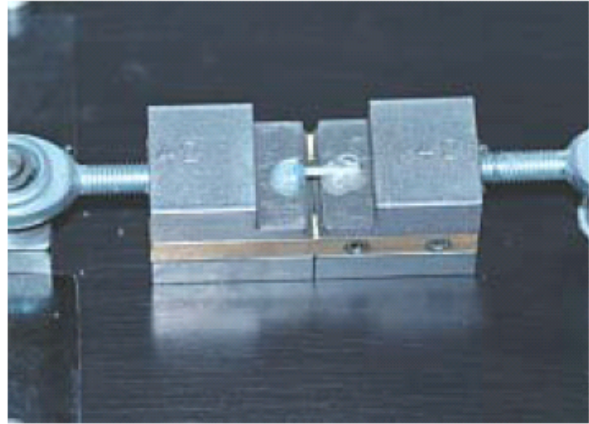
SISTEMI ADESIVI SELF-ETCHING PRIMER

Nome commerciale	Azienda produttrice	Passaggi necessari
Clearfil SE Bond	Kuraray, Japan	Primer+bonding
Clearfil Liner Bond 2V	Kuraray, Japan	Primer+bonding
Prime & Bond NT	DentSply, Germany	Monocomponente
Prompt L-Pop 1,2	Espe, Germany	Monocomponente
One-up Bond	Tokujama, Japan	Monocomponente
Tyrian SPE/One-Step Plus	Bisco, IL, USA	Primer+bonding

TABELLA 7



11. Grafico che illustra come l'adesione aumenti in maniera esponenziale nella dentina superficiale rispetto a quella profonda. RDT: Residual Dentin Thickness, spessore di dentina residuo per giungere alla cavità pulpare.



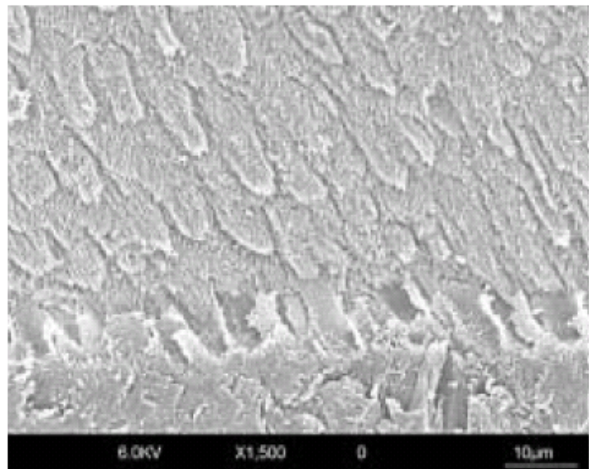
12. Immagine raffigurante un test di microtensile bond strength.

tono un buon termine di paragone per quanto concerne l'uso clinico dei SA, grazie allo sviluppo di conoscenze legate alla morfologia della dentina e all'introduzione di nuovi accorgimenti: primo fra tutti è il test di microtrazione (*microtensile bond strength*) che permette di valutare con grande precisione i valori di adesione su di una superficie suddividendola in superfici di area molto piccola (1×1 mm, **figura 12**). Questo test è oggi considerato test di riferimento per ripetibilità, sensibilità, affidabilità ed efficacia⁴⁷.

Per quanto riguarda i sistemi *self-etch* (**tabella 7**), c'è poi da considerare che mentre sulla dentina raggiungono ormai valori paragonabili a quelli ottenuti dai sistemi *total etch*, sullo smalto presentano qualche problematica clinica¹⁵, probabilmente a causa della loro scarsa aggressività⁴⁸. Si è potuto appurare che molta importanza assume il pH della soluzio-

ne utilizzata per condizionare lo smalto²³. Più è basso il pH e quindi acida la soluzione condizionante e meglio riesce ad aderire alla superficie smaltea (**figura 4**).

Con certi sistemi *self-etch* (soprattutto con i *two step*) si riescono a ottenere valori attorno ai 35-40 MPa¹⁵ (**figura 13**). Inoltre si è potuto appurare che gli adesivi *self-etch*



13. Immagine al SEM ad alta risoluzione che mostra uno strato di adesivo applicato su una superficie smaltea. Si nota l'interdigitazione dell'adesivo all'interno dei prismi smaltei e dei cristalli di idrossiapatite (1500×).

VANTAGGI E SVANTAGGI CLINICI DEI SISTEMI ADESIVI*

Sistemi adesivi	Vantaggi	Svantaggi
Self-etching primer (es. Clearfil SE Bond)	<ul style="list-style-type: none"> No risciacquo, rapida applicazione Minore sensibilità post-operatoria rispetto ai total etch I risultati degli studi clinici supportano il loro uso sulla dentina Aderiscono molto bene alla dentina mordenzata con acido ortofosforico 	<ul style="list-style-type: none"> Può crearsi una situazione di microleakage sullo smalto a causa di una minore mordenzatura sullo smalto stesso Lieve degradazione dello strato ibrido dopo un anno, <i>in vivo</i>
Adesivi Self-etching all-in-one (es. Prompt L-Pop)	<ul style="list-style-type: none"> No risciacquo, applicazione molto rapida Nello smalto il pattern di mordenzatura è simile a quello ottenuto con l'acido ortofosforico No bottle, no contaminazione crociata, no evaporazione del solvente 	<ul style="list-style-type: none"> Non danno alti valori di adesione dentinale Aderiscono meglio con i compomeri che con i compositi Possono aver bisogno dell'applicazione di più strati per essere efficaci sulla dentina
Adesivi Total etch multi-bottle (es. All-Bond 2, Scotchbond Multi-Purpose, OptiBond FL)	<ul style="list-style-type: none"> Hanno un lungo backup di ricerca <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> su differenti substrati Hanno i più alti valori di adesione tra gli adesivi dentali Generalmente contengono una opzione dual-cure per i restauri indiretti e per l'almalgama 	<ul style="list-style-type: none"> Un maggior numero di bottle rende il loro utilizzo più difficoltoso Qualche bottle presente nel kit potrebbe non venire mai utilizzata La possibilità che si esaurisca prima una bottle di un'altra L'applicazione sequenziale del primer e del bonding può essere invertita
Adesivi total etch 1 bottle (es. Excite, One Step, OptiBond SOLO Plus, PQ1, Prime&Bond NT)	<ul style="list-style-type: none"> La ricerca di laboratorio consente il loro uso sia su smalto che su dentina Gli studi clinici mostrano risultati molto positivi Il concetto dell'unica boccetta li rende molto semplici da usare 	<ul style="list-style-type: none"> Generalmente presentano minori valori di adesione degli adesivi con un maggior numero di passaggi Gli adesivi con il solvente acetone possono perdere la loro efficacia con il continuo uso Gli adesivi con il solvente acetone possono aver bisogno di più strati di quelli raccomandati dal produttore Gli adesivi a solvente alcolico possono aderire meno bene attorno ai margini della preparazione Alcuni di questi adesivi non sono compatibili con i compositi auto-polimerizzanti

* J. Perdigão, R. Frankenberger, B.T. Rosa, L. Breschi New trends in dentin/enamel adhesion. Am J Dent 2000;13:25D-30D

TABELLA 8

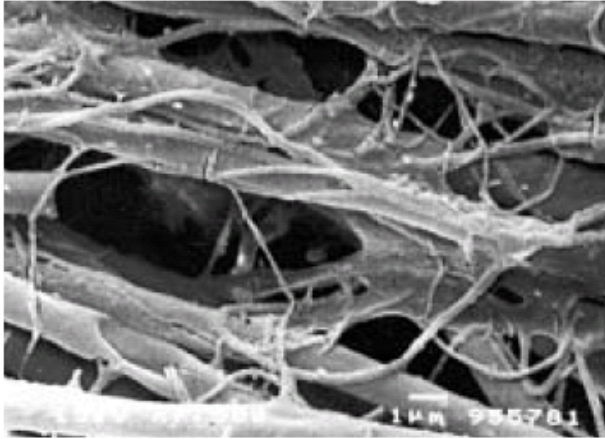
ching attuali non sono ancora in grado di fornire valori di adesione elevati in dentina sclerotica e sub-cariosa⁴⁹. La dentina sclerotica presenta caratteristiche morfologiche differenti da quelle della dentina sana, intesa co-

me dentina inalterata da processi cariosi. Molte variabili, infatti, contribuiscono a ridurre ulteriormente i valori di adesione. Nella **tabella 8** sono elencate le variabili cliniche responsabili di alterazioni dell'adesione.

STRATO IBRIDO DENTINALE

STRATO IBRIDO PROFONDO

Le caratteristiche istologiche della dentina profonda determinano la formazione di uno strato ibrido ca-



14. Immagine al SEM che raffigura i resin tag e l'intreccio dei lateral branches (1500×).

ratterizzato da molti *resin tag*, ovvero estroflessioni di resina all'interno dei tubuli dentinali aperti dalla mordenzatura (figura 14). Al contrario di quanto ritenuto in passato, i *resin tag*, non svolgono un ruolo di ritenzione e adesione, mentre sono importanti (forse determinanti) nel ridurre la permeabilità dentinale e nel contribuire al sigillo della dentina. È inoltre verosimile che i canalicoli laterali possano migliorare o permettere una diffusione retrograda di resina.

Da un punto di vista clinico, ogni passaggio operativo (mordenzatura, controllo della umidità di superficie, applicazione dello strato di adesivo, polimerizzazione ecc.) viene a influenzare notevolmente il risultato finale, ovvero l'adesione⁴⁶. Sono stati pensati quindi sistemi che fossero in grado di standardizzare le procedure e la tecnica per raggiungere risultati di adesione simili anche se il prodotto è in mani meno esperte. I *self-etching primer* dei sistemi *two step*, ad esempio, hanno eliminato gli *step*

della mordenzatura e del risciacquo che sono difficili da standardizzare dal punto di vista operativo a causa della instabilità della matrice dentinale demineralizzata⁵⁰.

Il tipo di strato ibrido che si viene a formare è influenzato dalla categoria di sistema adesivo utilizzata. Un sistema *total etch* che sfrutta l'acido ortofosforico al 37% per la mordenzatura formerà uno strato ibrido spesso e in dentina intatta. Per quanto riguarda i sistemi *self-etching*, la morfologia varierà molto a seconda dell'aggressività del grado di condizionamento del sistema usato⁴⁸: le versioni più aggressive possono dissolvere completamente lo *smear layer* ottenendo risultati simili a quelli dei convenzionali sistemi *total etch*⁵¹; al contrario le versioni meno aggressive incorporano lo *smear layer* come parte dell'interfaccia di adesione e formano uno strato ibrido in dentina intatta spesso meno di 2 μm³⁹.

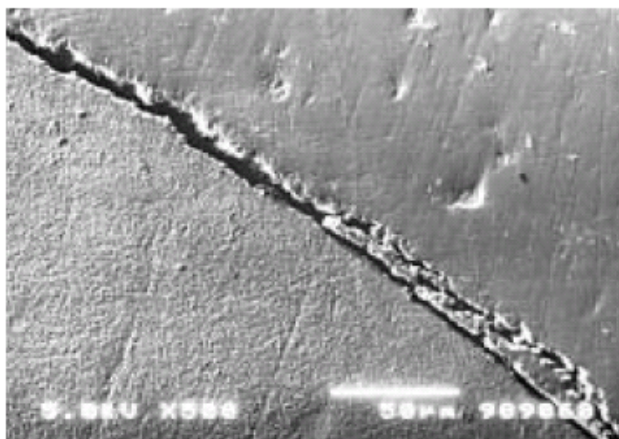
La corretta conoscenza e padronanza di tali passaggi è pertanto fonda-

mentale nelle tecniche operative. Non è ipotizzabile ottenere una corretta adesione senza le conoscenze di base della morfologia dentinale e dei meccanismi di adesione.

STRATO IBRIDO MARGINALE

Lo strato ibrido che si forma a livello del margine del restauro viene definito *Marginal Hybrid Layer* (MHL) o strato ibrido marginale²⁶. Tale strato ha alcune peculiarità morfologiche, in quanto presenta spessori inferiori rispetto a quelli ottenibili in dentina profonda, è particolarmente poroso e relativamente povero di tubuli dentinali. L'integrità dell'MHL è tuttavia fondamentale per il mantenimento del sigillo marginale. Un MHL estremamente poroso facilita la formazione di gap marginali, di infiltrazione e nanoinfiltrazione marginale e probabilmente, in ultima analisi e come estrema conseguenza, porta alla formazione di carie secondarie e delle cosiddette *black spot* o carie pigmentate marginali. Le evidenze cliniche confermano tali dati, anche se occorrono ancora molti studi in vivo.

L'integrità dell'MHL è legata alla capacità della resina di mantenere inalterate le fibre collagene e di ga-



15. Immagine al SEM che documenta la frattura dello smalto marginale in seguito alla contrazione del composito (500x).

rantirne una corretta impregnazione. La presenza di agenti acidi (placca batterica, biofilm batterici a pH acido ecc.) comporta tuttavia la rimozione di apatite (fase inorganica) perimarginale e contribuisce alla formazione di una dentina porosa e con infiltrazione retrograda⁵². Immagini al SEM documentano la porosità di tale zona.

Come già accennato, a livello dello smalto l'adesione è stata sicuramente migliore che a livello dentinale sia utilizzando le comuni tecniche di mordenzatura che i sistemi auto-mordenzanti (*self-etching system*). Tuttavia, l'enorme forza di contrazione delle resine composite porta a esercitare sulle pareti dello smalto una trazione che spesso (molto spesso) è responsabile di fratture perimarginali, chiaro indice della tensione trasmessa (figura 15). Un nostro recente studio conferma la possibilità che lo smalto subisca la formazione di fessure e fratture (fenomeno del *chipping*) indotte dallo

stress da polimerizzazione del composito⁵³. Le implicazioni cliniche di tale frantumazione dello smalto marginale sono evidenti: margini irregolari, carie secondarie e alterato sigillo marginale.

ADESIONE MEDIANTE CEMENTI VETROIONOMERICI

I cementi vetroionomerici (CVI) sono materiali da restauro formati da una polvere di particelle vetrose con ioni disciolti e da un acido polialchenoico che reagiscono insieme a formare una massa di cemento⁵⁴. I CVI vengono ampiamente usati in odontoiatria per alcune loro proprietà positive. Il rilascio di fluoro⁵⁵ e il tipo di adesione che ottengono con smalto e dentina sono alcune delle loro caratteristiche favorevoli⁵⁶. I CVI possono essere ricaricati mediante applicazioni di fluoro per mantenere la proprietà

cariostatica propria di questi materiali. Tale ricarica è stata anche recentemente documentata da un nostro studio condotto in collaborazione con il laboratorio di mineralogia⁵⁷. È stata osservata infatti *in vitro* una inibizione del processo di demineralizzazione proprio della patologia cariosa⁵² e una riduzione di carie primarie nella pratica clinica⁵⁸ con l'uso di questi materiali. Nonostante queste notevoli proprietà, svantaggi di tipo prevalentemente meccanico ed estetico hanno limitato l'uso dei CVI in ambito clinico⁵⁹.

Materiali da restauro come i compositi (nei quali sono stati incorporati monomeri resinosi) sono quindi stati usati per contrastare gli svantaggi dei CVI convenzionali⁶⁰. A maggiori proprietà meccaniche si associa infatti la proprietà dei convenzionali CVI di contrastare la progressione cariosa e di indurre una remineralizzazione marginale nella dentina esposta *in vitro* a soluzione cariogena⁶¹.

I CVI rappresentano l'unico materiale che può aderire alla struttura dentaria senza pretrattamento. È comunque possibile pretrattare mediante l'uso di un debole acido polialchenoico che migliora il legame

tra i substrati⁶². Può quindi essere usata una procedura di applicazione a uno o a due passaggi. Quando viene usata una fresa diamantata ad alta granulometria si verifica una più abbondante e compatta produzione di *smear layer*, ed è particolarmente indicata una preliminare mordenzatura⁶³. In generale l'acido polialchenoico viene applicato per 10-20 secondi, segue un risciacquo e viene soffiato un getto d'aria che eviti comunque la disidratazione della superficie⁶⁴. L'incremento dell'adesione è dato dall'effetto di rimozione dello *smear layer* e da quello demineralizzante che aumenta la superficie disponibile per l'adesione attraverso la formazione di microporosità. Anche l'interazione chimica tra l'acido polialchenoico e la residua idrossiapatite è in grado di incrementare l'adesione. L'adesione si ottiene attraverso un'interconnessione micromeccanica grazie alla modesta ibridizzazione della rete di fibrille collagene ricoperte dall'idrossiapatite⁶⁵. L'adesione clinica viene ottenuta attraverso la formazione di legami ionici tra gruppi carbossilici dell'acido polialchenoico e il calcio dell'idrossiapatite che rimane attorno alla superficie collagenica esposta¹.

FALLIMENTO DEL LEGAME ADESIVO

In generale possiamo parlare di fallimento di legame adesivo quando si ha una degradazione del sistema adesivo usato per il restauro con conseguente formazione di *gap* marginale. Tale situazione può determinare nel tempo la formazione di una carie secondaria e il distacco del restauro.

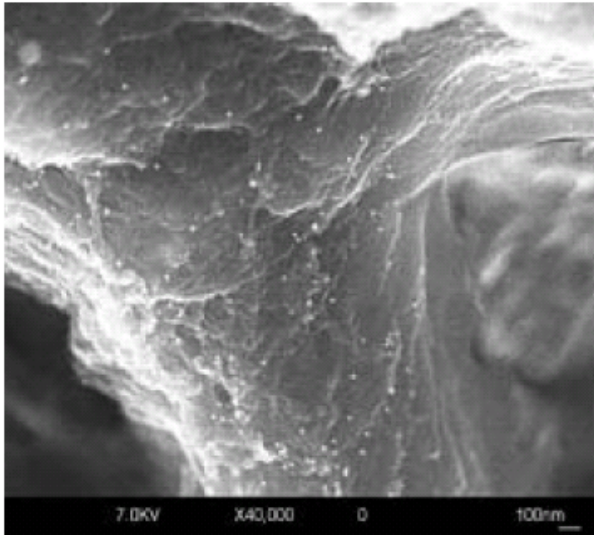
Alcuni studi hanno dimostrato che la degradazione idrolitica che avviene nel tempo si verifica a carico dei vari sistemi adesivi, sia *three step* che *two* e *one step*³². Le vie che possono portare al fallimento del legame adesivo sono principalmente dovute a due fattori: scarsa qualità dello strato ibrido e fenomeni di degradazione da esposizione all'acqua (*water degradation*).

E ben noto che piccoli ioni o molecole possono penetrare attraverso lo strato ibrido anche in assenza di una formazione evidente di un *gap*. Questo fenomeno è chiamato *nanoleakage* ed è il risultato di molteplici meccanismi che determinano la formazione di nanoporosità dovuti a differenti meccanismi a seconda dei sistemi adesivi. Nel caso dei sistemi *total etching* il principale

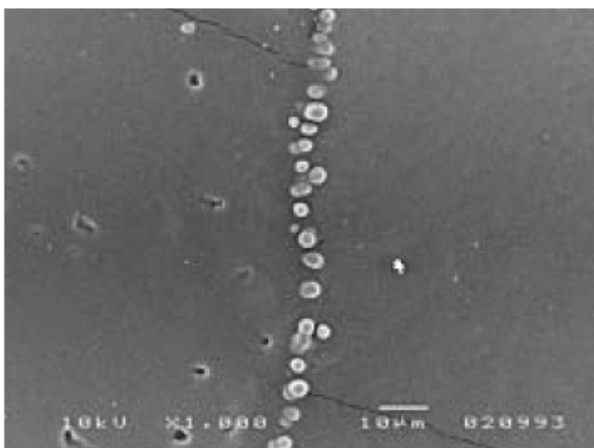
imputato sarebbe una incompleta infiltrazione dei monomeri adesivi nella rete collagenica esposta dalla rimozione della idrossiapatite dovuta alla mordenzatura⁶⁵. Nel caso dei sistemi *self-etching* in cui l'infiltrazione è contemporanea alla demineralizzazione, il *nanoleakage* sarebbe da imputarsi alla ritenzione di acqua o di solventi residui che rimangono intrappolati all'interno dello strato ibrido creando porosità o nano-canali che aumentano la permeabilità dello strato ibrido³².

Oltre alla formazione di microporosità all'interno dello strato ibrido, recenti studi basati sulla immunolocalizzazione delle fibrille collagene effettuati mediante SEM ad alta definizione hanno permesso di evidenziare come non solo lo strato ibrido sia poroso per il fenomeno prima descritto del *nanoleakage*, ma le stesse fibrille collagene possano essere non completamente ibridizzate e infiltrate dalla resina anche in assenza di un "vuoto" o di microporosità, in quanto identificabili da un anticorpo che ne riconosce la struttura tridimensionale^{66,67} (figura 16).

L'acqua e altri componenti della placca orale (acido lattico, esterasi salivari, enzimi proteolitici) posso-



16. Immagine ottenuta dopo immunolocalizzazione delle fibrille collagene mediante un anticorpo monoclonale legato a particelle di oro colloidale. Le particelle bianche riflettenti identificano le fibrille collagene esposte e non infiltrate nella resina a livello della zona peritubulare di un resin tag creatosi dopo utilizzo di Prime & Bond NT (40000x).



17. Immagine al SEM di una replica di un restauro in composito. Si può identificare una linea di droplets all'interfaccia tra composito e dentina in corrispondenza dello strato ibrido. I droplets sono la replica delle gocce di acqua che fuoriescono dallo strato ibrido e sono in relazione all'elevata permeabilità di tale area (1000x).

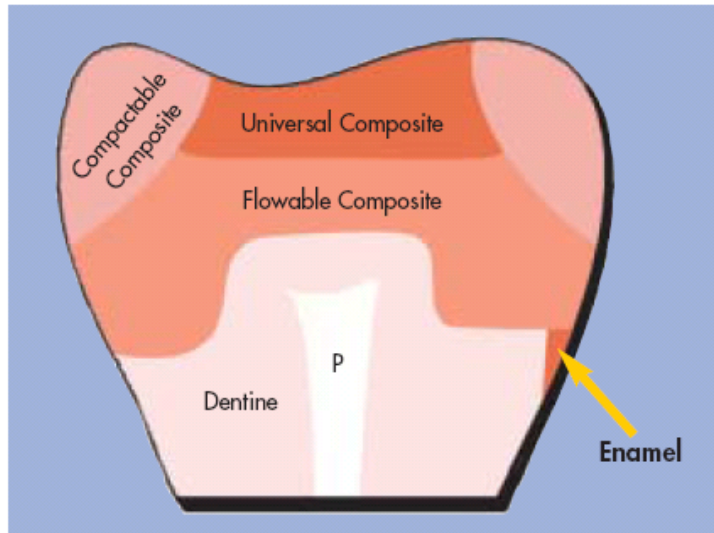
no quindi attraversare lo strato ibrido e contribuire alla dissoluzione degli adesivi o delle fibrille di collagene assieme al loro legame con le resine^{68,69}.

L'importanza della presenza di acqua sulla durata a lungo termine delle otturazioni è ancora non chiara, ma può essere correlata alla presenza di formazioni reticolari visibili dopo infiltrazione con nitrato di argento descritte come *water tree* da Tay e Pashley³².

A rinforzare l'ipotesi della permeabilità dei sistemi adesivi vi sono recenti studi eseguiti al SEM sui materiali adesivi mediante una metodica di replica in restauri di II classe^{70,71}. Tali studi hanno evidenziato la presenza di piccole bolle di acqua dette *droplet* sia sullo strato ibrido che sull'adesivo di numerosi sistemi adesivi (figura 17). Tali *droplet* si formano all'interfaccia tra composito e dentina dopo conservazione dei campioni in acqua, testimoniando che gli adesivi si comportano come membrane permeabili^{72,73}. Lo stesso studio dimostra inoltre come il contatto dei restauri con un ambiente di tipo acido accentua questo fenomeno e di conseguenza la permeabilità dei sistemi adesivi.



18. Esempio clinico di polimerizzazione di una resina composita con lampada a luce alogena.



19. Schema della stratificazione dei compositi. Si nota l'utilizzo di composito flow nella parte di cavità più profonda e l'utilizzo di composito universale (altamente caricato) a livello occlusale.

Risulta inoltre particolarmente da sottolineare come la permeabilità dei sistemi adesivi sia in diretto rapporto con la loro idrofilia; questo fenomeno risulta infatti particolarmente evidente nei sistemi adesivi *self-etching* in un unico passaggio (*one step*) in cui l'incorporazione del *primer* e dell'adesivo all'interno di un sistema acquoso come l'acido per la mordenzatura, ne determina un'alta idrofilia. Analogamente risulta importante sottolineare come fenomeni di permeabilità dello strato ibrido e dello strato adesivo possano influenzare negativamente il sigillo marginale dei restauri con margine in dentina, vanificando la ricerca dell'impermeabilizzazione del substrato dentinale.

La presente disamina porta a una serie di conclusioni con importanti riflessi sull'attività clinica. Sicuramente la quantità e la qualità degli

studi eseguiti su tale argomento sono sconvolgenti o, come affermato da alcuni relatori internazionali, sconcertanti, in quanto mai, probabilmente, in odontoiatria, tanti gruppi di ricerca hanno speso tempo e mezzi per indagare a fondo i meccanismi di adesione nei loro molteplici aspetti. Si può anche affermare che la ricerca risulta affascinante perché finalmente sono stati conosciuti tessuti (ad esempio la dentina) e meccanismi di degenerazione del collagene e dell'apatite che altrimenti sarebbe rimasti oscuri ancora per anni. I dati clinici a disposizione sono certamente a favore di un enorme e decisivo progresso verso alcuni passaggi: restauri più longevi, più conservativi, più estetici rispetto a quanto ottenibile ai tempi dell'amalgama⁷⁴. Certamente l'adesione non è regolata solo dai sistemi adesivi (e dal loro corretto

utilizzo), ma anche da altri fattori quali le tecniche di polimerizzazione (figura 18) e le tecniche di stratificazione dei compositi e/o dei compositi flow (figura 19). Tali variabili sono tuttora oggetto di sperimentazione in vitro e clinica. Le evidenze iniziali (e anche più che iniziali) sono a favore di tecniche di stratificazione con ampio utilizzo di compositi flow per ridurre il rischio di bolle e soprattutto per ridurre lo stress da polimerizzazione.

Diversi studi suggeriscono anche la ridotta percentuale di carie secondarie e di fratture dell'elemento restaurato⁷⁴. Sicuramente sono concetti e idee che vengono attualmente affrontati e confrontati nei più importanti congressi e seminari scientifici. Sicuramente è anche uno degli aspetti della nostra professione che dobbiamo curare e mantenere ai livelli più elevati.

Corrispondenza *Lorenzo Breschi*
UCO di Odontostomatologia, Università di Trieste
via Stuparich 1, 34129 Trieste
e-mail: lbreschi@units.it

BIBLIOGRAFIA

1. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003;28:215-35.
2. Davidson CL, de Gee AJ, Feilzer A. The competition between the composite-dentin bond strength and the polymerization contraction stress. *J Dent Res* 1984;63:1396-9.
3. Yoshikawa T, Nakaoki Y, Takada T, Burrow MF, Tagami J. Effect of light-curing method and irradiation time on marginal sealing and cavity wall adaptation of resin composite restorations. *Am J Dent* 2003;16:63A-67A.
4. Sharma SJ, Roulet JF. Adhesion: the silent revolution. 2nd European Symposium on Adhesive Dentistry: 7-9 May 1999. *J Adhes Dent* 1999;1:285-7.
5. Gladys S, Van Meerbeek B, Lambrechts P, Vanherle G. Microleakage of adhesive restorative materials. *Am J Dent* 2001;14:170-6.
6. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res* 1982;16:265-73.
7. Van Meerbeek B, Willems G, Celis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. *J Dent Res* 1993;72:1434-42.
8. Buonocore MG. A simple method for increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 1955;34:849.
9. Swift EJ, Cloe BC. Shear bond strengths of new enamel etchants. *Am J Dent* 1993;6:162-4.
10. Perdigão J, Lopes M. Dentin bonding questions for the new millennium. *J Adhes Dent* 1999;1:191-209.
11. Ferrari M, Mannocci F, Vichi A, Davidson CL. Effect of two etching times on the sealing ability of Clearfil Liner Bond 2 in Class V restorations. *Am J Dent* 1997;10:66-70.
12. Opdam NJ, Roeters FJ, Feilzer AJ, Verdonchot EH. Marginal integrity and postoperative sensitivity in Class 2 resin composite restorations *in vivo*. *J Dent* 1998;26:555-62.
13. Shimada Y, Senawongse P, Harnirattisai C, Burrow MF, Nakaoki Y, Tagami J. Bond strength of two adhesive systems to primary and permanent enamel. *Oper Dent* 2002;27:403-9.
14. Torii Y, Itou K, Nishitani Y, Ishikawa K, Suzuki K. Effect of phosphoric acid etching prior to self-etching primer application on adhesion of resin composite to enamel and dentin. *Am J Dent* 2002;15:305-8.
15. Inoue S, Vargas MA, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Sano H, Van Meerbeek B. Microtensile bond strength of eleven contemporary adhesives to enamel. *Am J Dent* 2003;16:329-34.
16. Goracci G, Mori G, Baldi M. Terminal end of the human odontoblast process: a study using SEM and confocal microscopy. *Clin Oral Invest* 1999;3:126-32.
17. Mjör IA, Fejerskov O, eds. *Human Oral Embryology and Histology*. I ed. Copenhagen: Munksgaard, 1986.
18. Ikemura K, Tay FR, Hironaka T, Endo T, Pashley DH. Bonding mechanism and ultrastructural interfacial analysis of a single-step adhesive to dentin. *Dent Mater* 2003;19:707-15.
19. Tay FR, Gwinnett AJ, Pang KM, Wei SHY. Structural evidence of a sealed tissue interface with a total-etch wet bonding technique *in vivo*. *J Dent Res* 1994;73:629-36.
20. Pashley DH. Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent Suppl* 1984;3:13-29.
21. Breschi L, Gobbi P, Chersoni S, Mazzotti G, Prati C. Effects of different acid and sodium hypochlorite treatments on dentin collagen: a FEISEM analysis. *Am J Dent* 2003;16:77A-81A.
22. Breschi L, Lopes M, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M, Perdigão J. Dentin Proteoglycans: an immunocytochemical FEISEM study. *J Biomed Mater Res* 2002;61:40-6.
23. Breschi L, Perdigão J, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M, Lopes M. Immunolocalization of collagen type I in etched dentin. *J Biomed Mater Res* 2003;66A:764-9.
24. Goracci G, Mori G. Scanning electron microscopic evaluation of resin-dentin and calcium hydroxide-dentin interface with resin composite restorations. *Quintessence Int* 1996;27:129-35.

25. Prati C, Ferrieri P, Galloni C, Mongiorgi R, Davidson CL. Dentin permeability and bond quality as affected by new bonding systems. *J Dent* 1995;23:217-26.
26. Prati C, Chersoni S, Mongiorgi R, Pashley DH. Resin-infiltrated dentin layer formation of new bonding systems. *Oper Dent* 1998;23:185-94.
27. Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems. *J Dent Res* 1992;71:1530-40.
28. Van Meerbeek B, Yoshida Y, Snauwaert J, Hellemans L, Lambrechts P, Vanherle G, Wakasa K, Pashley DH. Hybridization effectiveness of a two-step versus a three-step smear layer removing adhesive system examined correlatively by TEM and AFM. *J Adhes Dent* 1999;1:7-23.
29. Prati C, Chersoni S, Pashley DH. Effect of removal of surface collagen fibrils on resin-dentin bonding. *Dent Mater* 1999;15:323-31.
30. Perdigao, Ferrari, Breschi L, Gobbi P, Chersoni S, Mazzotti G, Prati C. Effects of different acid and sodium hypochlorite treatments on dentin collagen: A FEISEM analysis. *Am J Dent* 2003;16:77A-81A.
31. Hashimoto M, De Munck J, Ito S, Sano H, Kaga M, Oguchi H, Van Meerbeek B, Pashley DH. In vitro effect of nanoleakage expression on resin-dentin bond strengths analyzed by microtensile bond test, SEM/EDX and TEM. *Biomaterials* 2004;25:5565-74.
32. Tay FR, Pashley DH. Water treeing: a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent* 2003;16:6-12.
33. Pashley DH, Tay FR, Yiu CKY, Hashimoto M, Breschi L, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-21.
34. Van Meerbeek B, Vargas S, Inoue S, Yoshida S, Peumans M, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesives and cements to promote preservation dentistry. *Oper Dent* 2001 suppl 6:119-44.
35. Perdigao J, Van Meerbeek B, Lopez MM, Ambrose WW. The effect of a re-wetting agent on dentin bonding. *Dent Mater* 1999;15:2828-295.
36. Goracci G, Mori G, Bazzucchi M. Marginal seal and biocompatibility of a fourth-generation bonding agent. *Dent Mater* 1995;11:343-7.
37. Tay FR, Gwinnett JA, Wei S HY. Relation between water content in acetone/alcohol-based primer and interfacial ultrastructure. *J Dent* 1998;26:147-56.
38. Suppa P, Ruggeri A, Chersoni S, Cadenaro M, Breschi L. Sistemi adesivi self-etching: studio ultrastrutturale dell'interfaccia nello smalto. *G It Cons* 2004;1:28-33.
39. Tay FR, Carvalho R, Sano H, Pashley DH. Effect of smear layers on the bonding of a self-etching primer to dentin. *J Adhes Dent* 2000;2:99-116.
40. Finger WJ, Fritz U. Laboratory evaluation of one-component enamel/dentin bonding agents. *Am J Dent* 1996;9:206-10.
41. Kanca J. Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength to dentin. *Am J Dent* 1992;5:213-5.
42. Tay FR, Gwinnett JA, Wei S HY. Micro-morphological spectrum from overdrying to overwetting acid-conditioned dentin in water-free, acetone-based, single-bottle primer/adhesives. *Dent Mater* 1996;12:236-44.
43. Perdigao J, Swift EJ Jr, Lopes GC. Effects of repeated use on bond strengths of one-bottle adhesives. *Quintessence Int* 1999;30:819-23.
44. Dauvillier BS, Feilzer AJ, De Gee AJ, Davidson CL. Visco-elastic parameters of dental restorative materials during setting. *J Dent Res* 2000;79:818-23.
45. Biasotto M, Della Putta P, Cadenaro M, Suppa P, Breschi L, Di Lenarda R. Red light curing efficacy on composite resins. *G It Cons* 2004;2:107-12.
46. Pashley DH, Carvalho RM. Dentin permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997;25:355-72.
47. Goracci C, Sadek FT, Monticelli F, Cardoso PE, Ferrari M. Influence of substrate, shape, and thickness on microtensile specimens' structural integrity and their measured bond strengths. *Dent Mater* 2004;20:643-54.
48. Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part I: depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 2001;17:296-308.
49. Yoshiyama M, Urayama A, Kimochi T, Matsuo T, Pashley DH. Comparison of conventional vs self-etching adhesive bonds to caries-affected dentin. *Oper Dent* 2000;25:163-9.
50. Finger WJ, Balkenhol M. Practitioner variability effects on dentin bonding with an acetone-based one-bottle adhesive. *J Adhes Dent* 1999;1:311-4.

51. Frankenberger R, Perdigo J, Rosa BT, Lopes M. No-bottle vs "multi-bottle" dentin adhesives—a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater* 2001; 17:373-80.
52. Smales R J, Gao W. In vitro caries inhibition at the enamel margins of glass ionomer restoratives developed for the ART approach. *J Dent* 2000;28:249-56.
53. Prati C, Chersoni S, Suppa P, Breschi L. Resistance of marginal enamel to acid solubility is influenced by restorative systems: an *in vitro* scanning electron microscopic study. *Clin Oral Investig* 2003;7:86-91.
54. McLean J W, Nicholson J W, Wilson A D. Proposed nomenclature for glass-ionomer dental cements and related materials. *Quintessence Int* 1994;25:587-9.
55. Mount G. Glass-ionomer cements: past, present and future. *Oper Dent* 1994;19:82-90.
56. Hosoya Y, Garcia-Godoy E. Bonding mechanism of Ketac-molar aplicap and Fuji IX GP to enamel and dentin. *Am J Dent* 1998; 11:235-9.
57. Mongiorgi???? Personal communication. 2004.
58. Tyas M J. Cariostatic effect of glass ionomer cement: a five-year clinical study. *Aus Dent J* 1991;36:236-9.
59. Okada K, Tosaki S, Hirota K, Hume W R. Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva. *Dent Mater* 2001;17:34-9.
60. Prati C, Chersoni S, Cretti L, Montanari G. Retention and marginal adaptation of a compomer placed in non-stress-bearing areas used with the total-etch technique: a 3-year retrospective study. *Clin Oral Investig* 1998;2: 168-73.
61. Savarino L, Breschi L, Tedaldi M, Ciapetti G, Tarabusi C, Greco M, Giunti A, Prati C. Ability of restorative and fluoride releasing materials to prevent marginal dentine demineralization. *Biomaterials* 2004;25:1011-7.
62. Inoue S, Van Meerbeek B, Abe Y, Yoshida Y, Lambrechts P, Vanherle G, Sano H. Effect of remaining dentin thickness and the use of conditioner on micro-tensile bond strength of a glass-ionomer adhesive. *Dent Mater* 2001;17:445-55.
63. Tay FR, Smales RJ, Ngo H, Wei SH, Pashley DH. Effect of different conditioning protocols on adhesion of a GIC to dentin. *J Adhes Dent* 2001;3:153-67.
64. Prati C, Montanari G, Biagini G, Fava F, Pashley DH. Effects of dentin surface treatments on the shear bond strength of Vitra-bond. *Dent Mater* 1992;8:21-6.
65. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995;20:18-25.
66. Breschi L, Gobbi P, Lopes M, Prati C, Falconi M, Teti G, Mazzotti G. Immunocytochemical analysis of dentin: a double labeling technique. *J Biomed Mater Res* 2003;67A: 11-7.
67. Breschi L, Prati C, Gobbi P, Pashley DH, Mazzotti G, Teti G, Perdigo J. Immunohistochemical analysis of the collagen fibrils included inside the hybrid layer: a FEISEM study. *Oper Dent* 2004;29:538-46.
68. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000;79:1385-91.
69. Pashley DH, Tay FR, Yiu CKY, Hashimoto M, Breschi L, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216-21.
70. Chersoni S, Suppa P, Lorenzo B, Ferrari M, Tay FR, Pashley DH, Prati C. Water movement in the hybrid after different dentin treatments. *Dent Mater* 2004. In press.
71. Acquaviva GL, Piana G, Nucci C, Chersoni S, Pizzi S, Prati C. Permeabilità e osmosi dello strato ibrido marginale nei restauri in composito. *G It Cons* 2004;2:33.
72. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent* 2002;30:371-82.
73. Prati C, Chersoni S, Acquaviva GL, Breschi L, Suppa P, Tay FR, Pashley DH. Permeability of marginal hybrid layer in composite restorations. *Clin Oral Investig* 2004. In press.
74. Goracci G, Mori G. Esthetic and functional reproduction of occlusal morphology with composite resins. *Compend contin Educ Dent* 1999;20:643-8.

Carlo Prati · Stefano Chersoni ·
Giovanni Luca Acquaviva · Lorenzo Breschi ·
Pietro Suppa · Franklin R. Tay · David H. Pashley

Permeability of marginal hybrid layers in composite restorations

Received: 2 February 2004 / Accepted: 11 May 2004 / Published online: 21 January 2005
© Springer-Verlag 2005

Abstract The goal of adhesive dentistry is to restore the peripheral seal of dentin lost from removal of enamel. Unfortunately, the hybrid layer (HL) that is used to create that seal is permeable to small ions or molecules, even in the absence of detectable, interfacial gap formation via nanoleakage. This nanoleakage results from several mechanisms including incomplete infiltration of adhesive monomers into demineralized collagen matrix, presence of hydrophilic monomers, and insufficient removal of solvent or water that remains trapped inside the HL. These mechanisms lead to a porous interface with nanometer-

sized channels that increase the permeability of the HL. The null hypothesis tested in this study was that water and acidic solution storage are able to alter in vitro the resin-dentin interface, further increasing the marginal hybrid layer (MHL) permeability. Class II cavities were made in vitro. The specimens were stored in water for 1 week and in lactic acid solution for 3 days. Polyvinyl siloxane impressions of restoration margins were taken before and after storage in water and lactic acid solution. Polyether replicas were obtained using the silicon impressions as molds. Replicas and original samples were observed under scanning electron microscopy. Lines of water droplets were detected on MHLs and overlying adhesive only after storage. Replicas obtained after acidic solution storage showed great numbers of irregularities such as gaps, voids, and degradation of the dentin-restoration surface margin, but also a great number of droplets. Dentin-restoration resin interfaces absorb water and are damaged by storage in dilute lactic acid. The presence of water droplets probably indicates water that flows out of the interface during the setting time of the impression and thus represents an index of marginal HL water permeability.

C. Prati · S. Chersoni · G. L. Acquaviva
Department of Dental Sciences, University of Bologna,
Bologna, Italy

P. Suppa
Department of Anatomical Sciences, University of Bologna,
Bologna, Italy

L. Breschi
Department of Special Surgery, School of Dentistry,
University of Trieste,
Trieste, Italy

F. R. Tay
Department of Restorative Dentistry, Prince Philip Dental
Hospital, University of Hong Kong,
Hong Kong, SAR, China

D. H. Pashley
Department of Oral Biology and Maxillofacial Pathology,
School of Dentistry, Medical College of Georgia,
Augusta, Ga., USA

C. Prati (✉)
School of Dentistry, Unit of Endodontics, Department of Dental
Sciences, Alma Mater Studiorum, University of Bologna,
Via San Vitale 59,
40125 Bologna, Italy
e-mail: prati@alma.unibo.it
Tel.: +39-51-278011
Fax: +39-51-225208

Keywords Bonding agents · Dentin permeability · Hybrid layer · Replica · Restoration

Introduction

Conventional thought is that a perfect seal along the resin-dentin interface can be established within demineralized collagen matrix when it is completely infiltrated by adhesive resins in permanent and primary teeth [8, 9, 16]. This notion is based on the assumption that the polymerized resins used for bonding are nonporous and impermeable to fluids. However, small ions or molecules can permeate the hybrid layer (HL) even in the absence of detectable interfacial gap formation. This phenomenon is called "nanoleakage" and results from several mecha-

nisms that include the incomplete infiltration of adhesive monomers into a hydroxyapatite-depleted collagen network [24, 25] and retention of residual solvent or water that remains trapped inside the HL, creating porosities or nanochannels that increase the HL's permeability [28]. The functional groups of many adhesive monomers may have only weak chemical affinity for demineralized collagen, leaving much water bound to collagen [31].

Adhesive resins contain hydrophilic monomers that, after polymerization, may behave as a hydrogel, creating a three-dimensional copolymer network that can attract water and swell, similar to a sponge [1, 2, 17, 18, 30]. Water and other oral plaque constituents (lactic acids, salivary esterases, proteolytic enzymes, etc.) may cross the HL, even in the presence of optimally hybridized dentin, and contribute to the leaching of adhesives or to the degradation of collagen fibrils and their bond with resins [10].

The importance of water uptake in the long-term durability of restorations is still under question, but it may be related to water tree formation as described by Tay and Pashley [28]. A recent study [5] reported that water storage leads to degradation of HLs if they are directly exposed to water for 4 years. Dentinal nanoleakage phenomena increased when bonded specimens were stored in water but not in oil. This morphological alteration may be a consequence of the hydrolytic degradation of polymers and exposed collagen network over time [15].

For these reasons, the HLs formed in most peripheral dentin sites that have no enamel or cementum are potentially highly vulnerable to nano- and microleakage and deterioration [5, 10, 15]. The HLs located at these sites are called marginal hybrid layers (MHLs), since they are commonly found in cavosurface margins ending in dentin [21].

MHL exposed to the oral environment has several features that render it less effective than internal HL in preserving marginal sealing. For instance, MHL exposed to the oral environment is very thin [21]. This may be due to a higher acid resistance of dentin in this zone than deeper dentin areas and to the unfavorable orientation of tubules that limits the penetration of monomers [26].

Recently, a replica technique was used to demonstrate water uptake and release from dentin HL. During the setting of impression material, absorbed water flowed back to the outer surface of the HL and was trapped by the setting impression, producing a line of blisters that represented a replica of water droplets [2, 14]. These investigations support the hypothesis that there can be bidirectional water movement within the adhesive-HL complex [2, 3, 4]. In the present study, the morphology of MHL along the external margins of restorations was evaluated with the same technique, after storage in water and in a lactic acid solution, to simulate the effects of exposure to the oral environment. The hypotheses tested by this study were: (1) water droplets are detected along the marginal HL after storage in water of restoration samples and (2) lactic acid storage increases the number of droplets along marginal HL.

Materials and methods

Sample preparation

Thirty erupted third molars obtained from young patients (age range 25–40 years, mean 28.2), stored at 4°C in saline solution for no more than 1 month, were selected for the study. Nonretentive, standardized, class II cavities (3.5 mm width and 3.0 mm depth) were prepared with the proximal box extended to just below the cementum-enamel junction on the distal surface. This permitted examination of resin-dentin bonds was made under clinically relevant conditions. Medium- and fine-grit diamond burs were used with a high-speed, water-cooled handpiece (Castellini, Bologna, Italy). Different restorative systems were used: (1) Quadrant UniBond/Quadrant Universal LC (Cavex, Haarlem, The Netherlands), (2) Clearfil SE Bond/Clearfil APX (Kuraray, Osaka, Japan), (3) iBond + Venus (Haereus Kulzer, USA), (4) Quadrant Uni-1-bond + Universal LC (Cavex), and (5) Scotchbond 1+Z250 (3M-ESPE, St. Paul, Minn., USA).

Dentin pretreatment procedures

The specimens were randomly divided into the five groups of six teeth each: the dentin surface of groups 1, 4, and 5 was etched with 37% H₃PO₄ (Scotchbond etchant) (3M-ESPE) for 15 s. The specimens in each group were then rinsed with water for 20 s.

Bonding procedures

Resin composites were applied using a stainless spatula with 1-mm-thick increments and light-cured for 40 s. All bonding agents were used following the manufacturers' directions.

1. Quadrant UniBond (total etch with bonding technique): after dentin pretreatment procedures, the specimens were gently air-dried for 2 s. Adhesive was applied with a microbrush and gently spread with an air syringe to remove excess adhesive and evaporate the solvent. The adhesive was light-cured for 20 s at 400 mW/cm² with a previously tested unit (Visilux Command 2) (3M).
2. Clearfil SE Bond (self-etching technique): the bond primer was applied with a microbrush and gently air-dried for 6–8 s to evaporate the solvent. A layer of Clearfil SE Bond adhesive was applied with a microbrush, spread with air, and light-cured for 20 s.
3. iBond (self-etching technique): adhesive was applied with a microbrush for 30 s and gently spread with air for 6 s to evaporate the solvent. The adhesive layer was light-cured for 20 s.
4. Quadrant Uni-1-Bond (total etch with bonding technique): after dentin pretreatment procedures, the specimens were gently air-dried for 2 s. Adhesive was

applied with a microbrush and gently spread with an air syringe to remove excess adhesive and evaporate the solvent. The adhesive was light-cured for 20 s.

5. Scotchbond 1 (total etch with bonding technique): after dentin pretreatment procedures, the specimens were gently air-dried for 2 s. Adhesive was applied with a microbrush and gently spread with an air syringe to remove excess adhesive and evaporate the solvent. The adhesive was light-cured for 20 s.

Replica preparation

After finishing with the Sof-Lex PopOn system (3M), each restoration was immediately polished along the margins with wet silicon carbide abrasive papers (nos. 600, 800, 1000, 1200, 2400, and 4000). The specimens were dried with gentle air blast for 10 s, and the first replica of each

restoration was immediately made using a polyvinyl-siloxane impression material (President Jet light) (Coltene, Alstatten, Switzerland), applying the material to the restoration surface without any pressure. After 6 min, the impression material was separated from the tooth surface to obtain a negative replica of each sample. Positive replicas were then made using a polyether impression material (Permadyne Garant) (3M) using the silicon negative replica as a mold. Each restored tooth was stored in de-ionized water (pH 6.4) at 37°C for 1 week. Then each sample was removed from the water and gently dried with an air syringe for 10 s, and a second impression was taken as previously described.

Demineralization procedures

All restored teeth that had been stored in water for 1 week were then immersed in a demineralizing lactic acid solution (pH 4.4, 0.1 M, 37°C) for 3 days. The solution was changed every 8 h. After storage in this solution, each restored tooth was removed, washed under tap water for 2 min, and gently air-dried for 10 s, and a third replica was obtained.

Scanning electron microscope examination

Replicas (before and after water storage and after storage in lactic acid solution) were gold-coated and prepared for scanning electron microscope (SEM) observation (JEOL, Tokyo, Japan).

The restored teeth were then fixed in 4% glutaraldehyde (pH 7.4) in 0.2 M cacodylate buffer for 24 h at room temperature, rinsed in cacodylate buffer solution, dried, gold-coated, and analyzed by SEM in order to evaluate directly the HL morphology and exclude any preparation artefacts during the impression procedures.

The length of marginal gaps was measured as percentage of margin alteration respect to the total length of the margin. Positions of voids, droplets and blister-like structures, gaps, and fractures were recorded and inspected under SEM at $\times 1000$ magnification.

Results

The dentin-restoration interface was easily observed on SEM images of the replicas. Interfacial gaps 1–5 μm wide (Fig. 1a, b) were occasionally seen in restorations of all groups of materials (Table 1, Table 2). Replication of samples obtained before water immersion resulted completely free of water droplet replicas (Fig. 1a, b). No droplets were observed on dentin smear layer surfaces or enamel surface replicas.

Scanning electron microscope examination of the specimen replicas stored in water revealed small, scattered droplets (0.5–3 μm in diameter) only along the dentin margins of composite restorations associated with the MHL.

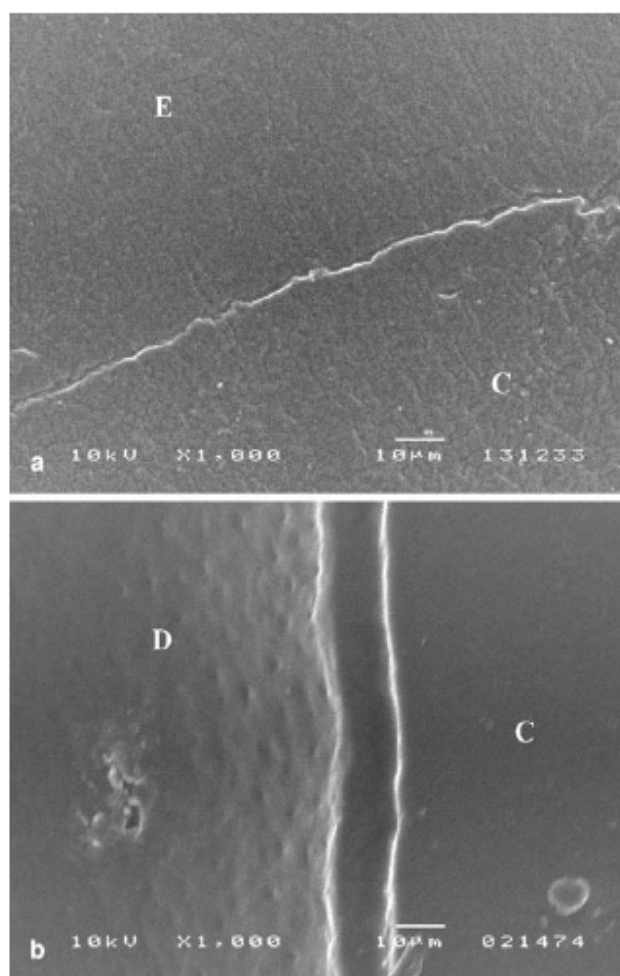


Fig. 1a, b Scanning electron micrographic images of dentin-restoration interface ($\times 1000$). **a** Margins of a resin composite restoration immediately after polishing and finishing procedures. Image shows the replica of a specimen obtained before its immersion in water. The visible composite (C) and the dentin surface (D) are easily identified. E enamel. **b** Image of a marginal gap obtained immediately after polishing and finishing and before water immersion. No water droplets are visible

Table 1 Composition of the adhesives used in this study. *HEMA* hydroxyethyl methacrylate, *META* methacryl oxyethyl trimethyllic anhydride

Adhesive	Components	Composition
Quadrant Unibond	Primer; bond	HEMA, purified water, ethanol, triethyleneglycol dimethacrylate, maleic acid ester, methacrylated polycarboxylic acids, maleic acid, and CQ; bisGMA, triethylene glycol dimethacrylate, maleic acid ester, Ba-Al-F-B-silicate glass, silicon dioxide, and CQ
Clearfil SE Bond	Self-etching primer; adhesive	HEMA, hydrophilic dimethacrylate, 10-MDP, MDPB, N,N-diethanol p-toluidine, CQ, and water; silanated silica, BisGMA, HEMA, hydrophilic dimethacrylate, 10-MDP, toluidine, and CQ
iBond	Liquid	Acetone, 4-META, glutaraldehyde
Uni-1-Bond	Liquid	UMA, HEMA, ethanol, CQ, butoxyethyl dimethyl aminobenzoate, 4-META, methacrylated polycarbonic acid, water, maleic acid
Scotchbond 1	Liquid	BisGMA, HEMA, hydrophilic dimethacrylate, polyalchenoic acid copolymer, ethanol, water

All materials showed droplets, as illustrated in Fig. 2a–c. No droplets were observed on dentin smear layer surfaces. Twenty droplets were detected for approximately every 100 μm of MHL. Composite and enamel surface replication also resulted free of droplets.

Lines of bigger water droplet replicas (0.5–3.5 μm) were seen along the entire length of the MHL in replicas (Fig. 3a, b) after storage in lactic acid solution. Open dentinal tubules were well observed on the dentin surface, suggesting that the acid solution was able to remove the smear layer produced during the polishing procedure. The diameter of tubules ranged from 0.5 μm (partially opened) to 2.0 μm (completely opened) (Fig. 4). No water droplets were detected on the tops of open dentinal tubules or on dentin surfaces.

Enamel surfaces appeared altered after storage in lactic acid. In many specimens, it was possible to observe an etching pattern, with loss of intraprismatic structure or roughening of the interprismatic enamel (Fig. 5a). The etching of enamel was most clearly visible close to the restoration margins, while the enamel surfaces distant from margins was relatively acid-resistant. All resin-enamel margins appeared free of the droplets seen on resin-dentin margins (Fig. 5b).

Obviously, the original samples resulted free of water droplets and blister-like structures. The morphology of original dentin surfaces and marginal gaps was similar to that observed in the replicas. Several gaps and fractures were observed but were free of droplets.

Discussion

The replica method for detecting margin alterations has been widely used in the past [7, 14]. In this study, such a technique was used to analyze evidence for water released from the MHL before and after immersion of teeth samples in water and lactic acid solution.

Interestingly, in this study, all replicas of restored teeth stored in water showed lines of droplets located only along or close to the resin-dentin margin. As revealed by the SEM images, this line was evident approximately 1 μm above the interface between resin and dentin. Since the droplets were visible only on the replicas of samples stored in water and not on the original specimens that were dehydrated prior to SEM observation, we believe that they were formed by water flowing out of the adhesive-MHL region during setting of the impression material [3, 4, 29]. Droplets were not present on sound dentin, resin composite, or marginal resin-enamel interfaces but only along the HL and at the bottom part of adhesives, suggesting that, during water storage, these structures took up and released more water than the other structures and tissues. We believe that these droplets are not artefacts produced by moisture condensation during impression taking, as they were absent when specimens were not preincubated in water and were never seen in replicas of resin-enamel margins. All materials showed the formation of droplet lines.

Table 2 Ranges of marginal gaps calculated as percentage of margin affected by gap with respect to total length of restoration margin. Presence of replica water droplets is reported as frequent (more than 20–25 per 100 μm), rare (less than 15–20 per 100 μm), or absent

Bonding agent	Before water immersion		After water immersion		After acid solution immersion	
	Percent of margin affected by gap	Water droplets	Percent of margin affected by gap	Water droplets	Percent of margin affected by gap	Water droplets
Quadrant Unibond + Universal LC	10–15	Absent	10–20	Frequent	15–25	Frequent
Clearfil SE Bond + APX	5–10	Absent	5–10	Rare	10–12	Frequent
iBond + Venus	15–20	Absent	15–25	Frequent	20–30	Frequent
Quadrant Uni-1-bond + Universal LC	15–25	Absent	15–25	Frequent	20–30	Frequent
Scotchbond 1 + Z250	10–15	Absent	10–20	Frequent	15–25	Frequent

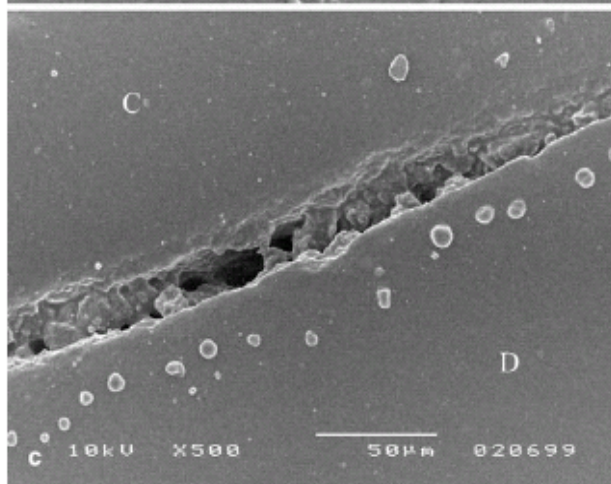
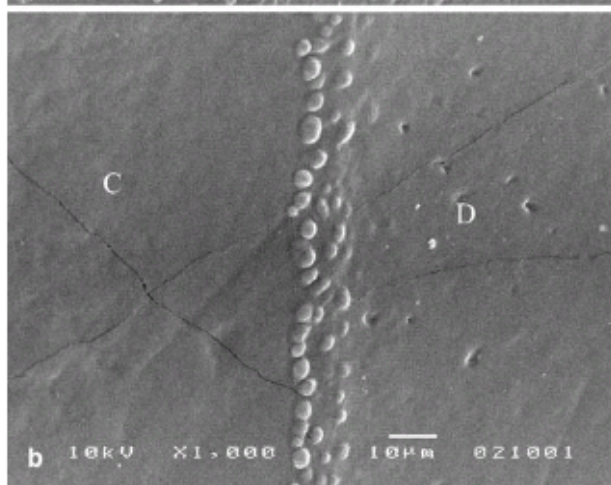
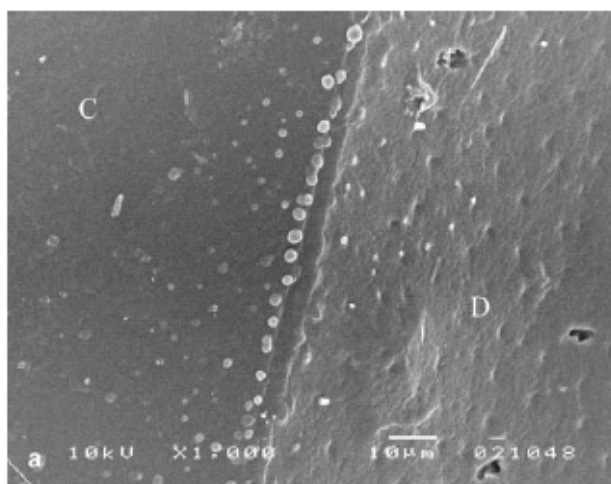


Fig. 2a-c Replicas of restoration specimens after immersion in water. *C* composite, *D* dentin. **a** Scattered droplets (0.5–2 µm in diameter) were detected at margins of restoration associated with the MHL and overlying adhesive (×1000). **b** Dentin-composite interface after immersion of the sample in water. Dentin is well visible. Water droplets are detected only along the hybrid layer and in its proximity (×1000). **c** Replica of specimen stored in water. Scattered droplets are visible along the MHL. A gap is well visible (×500)

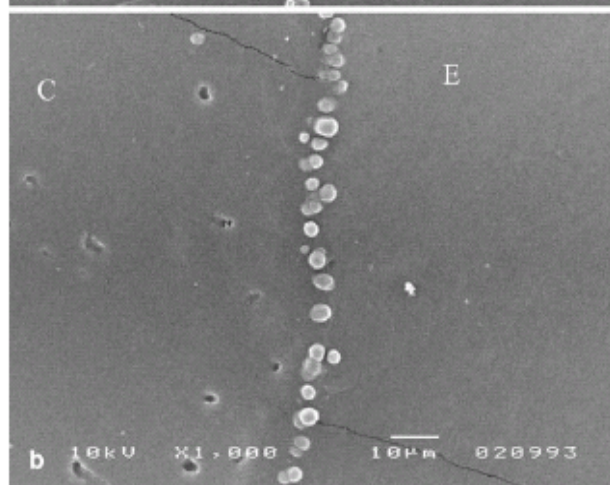
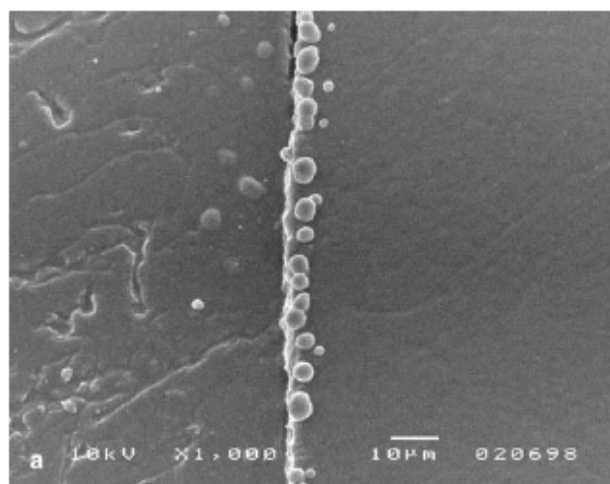


Fig. 3a, b Replicas of specimens stored in water and lactic acid solution (×1000). **a** A line of small and large droplets (0.5–5 µm in diameter) is observed along the MHL and the adhesive layer. **b** Another specimen. *C* composite, *E* enamel

Moisture transfer in organic coatings on porous materials has been studied extensively in nondental fields [11, 13, 20, 27]. It may occur via different mechanisms. While the demonstration of interconnecting water channels (water trees) in dentin adhesives [28] is an example of capillary fluid movement, in the absence of water-conducting pathways, water movement across polymer coatings may still occur via nanopores in the polymer that are created by the segmental mobility of the polymer chains, according to the free volume theory of Cohen and Turnbull [11]. Water molecules and small ions can move through these nanopores via a hopping mechanism that occurs in the range of picoseconds during the beta relaxation of these polymer chains [11]. Water diffusivity in polymer networks is probably enhanced by the incorporation of hydrophilic groups in the adhesive copolymers [27].

Permeability of water through these adhesives is caused not only by a loss of integrity between the adhesive and dentin but by the nanoporosity of the HL-adhesive complex. Most adhesive formulations include hydroxyethyl

methacrylate and acidic monomers [6, 31, 32] that may cause swelling pressures commonly seen in hydrogels [18, 33]. We speculate that hydrophilic resins in restorations absorb water during water storage, causing minute swelling in these structures that stretches the cross-linked polymer network [33]. When the specimens are removed from water, briefly dried, and then covered with impression material, the absorbed water is squeezed out by recoil of the polymer network at the free surface.

Interestingly, we found increased numbers and dimensions of droplets after acidic storage. We speculate that this was due either to a degradation effect of the acidic solution on the resin or that the low pH caused more water sorption [18, 21]. The presence of a wide marginal gap may increase the uptake and release of water.

Sound dentin is also a porous tissue. It contains approximately 10%/weight of aqueous fluids, most of which is in dentinal tubules. When dentin was removed from water and gently dried for 5–7 s, no water droplets were seen in the replicated dentin surface. Presumably, the mineralized dentin matrix is too stiff to stretch at a molecular level during water sorption, so the matrix cannot recoil when it is removed from water.

The results of the present study also revealed that there is no obvious direct relation between marginal integrity and number/dimensions of droplets on resin-bond dentin. Thus, we speculate that water absorbed by the HL was “stored” in small voids, porosities, or channels within the hybrid and adhesive layers and subsequently released, independently of any marginal breakdown [28]. This work indicates that both HLs and at least some contemporary adhesives absorb water. This water can come out of free surfaces within 3–6 min. Whether a similar bidirectional movement of water can occur under occlusal loading remains to be determined.

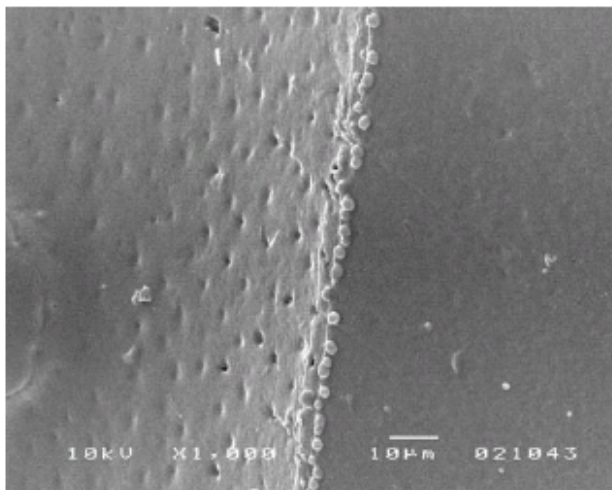


Fig. 4 Marginal dentin at the cervical portion of a cavity restoration ($\times 1000$). Dentinal tubules appear open and free of a residual smear layer. The tubule diameter ranges from 0.5 μm to 2 μm . Interesting is that the presence of open dentinal tubules is not responsible for the formation of water droplets in the replica, suggesting that dentinal fluids from tubules are not able to create any droplet-like structures. Droplets are visible only along the MHL

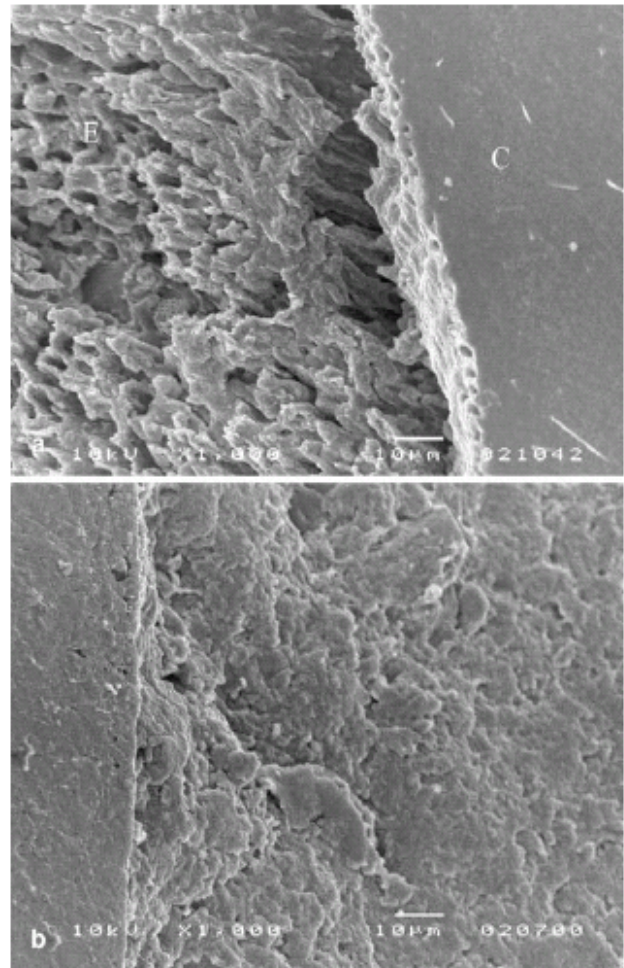


Fig. 5a, b Images by SEM of the enamel-composite margin ($\times 1000$). **a** Deterioration of an enamel surface after lactic acid immersion. The erosion of enamel is most clearly visible close to the margin of the restoration. *E* enamel, *C* composite. **b** Typical enamel alterations along the margin of the restoration

The development of marginal defects and secondary caries around restoration margins may be considered one of the major reasons for restoration failures and replacements [5, 12]. Little information is available on the mechanisms of marginal deterioration in the gap-free interfaces. Enamel surface resulted rich in porosities and alterations, especially close to the margin of restoration [22] but free of water droplets. The permeability characteristics of polymers have important implications in polymer degradation and have been extensively investigated in other fields [23, 34]. In MHL, we may suppose that the relatively high permeability of this area vulnerable to water may be responsible for the degradation of resin-dentin bond strength [19] and for the rapid, long-term hydrolytic deterioration of structural properties of the interface [10].

Acknowledgements This work was supported, in part, by the grant Progetto Pluriennale Biofilm Dipartimento Scienze Odontomatologiche e COFIN ex 60% 2001–2002 UNIBO.

References

- Burrow MF, Inokoshi S, Tagami J (1999) Water sorption of several bonding resins. *Am J Dent* 12: 295–298
- Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Pashley DH, Tay FR, Prati C (2003) In vivo dentinal fluid movement through hybrid layer. *J Dent Res* 82: B19, abstract 0053
- Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Ferrari M, Tay FR, Pashley DH, Prati C (2004) Water movement in the hybrid layer after different dentin treatment. *Dent Mater*, 20:796–803
- Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Yiu C, Huang C, Prati C, Breschi L, Ferrari M, Pashley DH, Tay FR (2004) In vivo and in vitro permeability of one-step self-etch adhesives. *J Dent Res* 83: 459–464
- De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, Lambrechts P, Vanherle G (2003) Four-year water degradation of total-etch adhesive bonded to dentin. *J Dent Res* 82: 136–140
- Frankeberger R, Perdigão J, Rosa BT, Lopes M (2001) “No-bottle” vs “multi-bottle” dentin adhesives—a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater* 17: 373–380
- Friedl KH, Schmalz G, Hiller KA, Mortazavi F (1997) Marginal adaptation of composite restorations versus hybrid ionomer/composite sandwich restorations. *Oper Dent* 22: 21–29
- Haller B (2000) Recent development in dentin bonding. *Am J Dent* 13: 44–50
- Hannig M, Reinhardt KJ, Bott B (1999) Self-etching primer vs phosphoric acid: an alternative concept for composite-to-enamel bonding. *Oper Dent* 24: 172–180
- Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H (2000) In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 79: 1385–1391
- Hedenqvist M, Angelstok A, Edsberg L, Larsson PT, Gedde UW (1996) Diffusion of small-molecule penetrants in polyethylene: free volume and morphology. *Polymer* 37: 2887–2902
- Hickel R, Manhart J (2001) Longevity of restorations in posterior teeth and reasons for failure. *J Adhes Dent* 3: 45–64
- Hoffman AS (2002) Hydrogels for biomedical application. *Advance Drug Delivery Review* 17: 3–12
- Itthaganun A, Tay FR (2000) Self-contamination of deep dentin by dentin fluid. *Am J Dent* 13: 195–200
- Li HP, Burrow MF, Tyas MJ (2001) The effect of long-term storage on nanoleakage. *Oper Dent* 26: 609–616
- Kaaden C, Schmalz G, Powers JM (2003) Morphological characterization of the resin-dentin interface in primary teeth. *Clin Oral Invest* 7: 235–240
- Maurer G, Prausnitz JM (1996) Thermodynamics of phase equilibrium for systems containing gels. *Fluid Phase Equilibria* 115: 113–133
- Miyata T, Nakamae K, Hoffman AS, Karzak Y (1994) Stimuli sensitivities of hydrogels containing phosphate groups. *Macr Chem Phys* 195: 1111–1120
- Okuda M, Pereira PN, Nakajima M, Tagami J, Pashley DH (2002) Long-term durability of resin dentin interface: nanoleakage vs. microtensile bond strength. *Oper Dent* 27: 289–296
- Pappas NA, Bures P, Leobandung W, Ichikawa H (2000) Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur J Pharm Biopharm* 50: 27–46
- Prati C, Pashley DH, Chersoni S, Mongiorgi R (2000) Marginal hybrid layer in class V restorations. *Oper Dent* 25: 228–233
- Prati C, Chersoni S, Suppa P, Breschi L (2003) Resistance of marginal enamel to acid solubility is influenced by restorative systems: an in vitro scanning electron microscopic study. *Clin Oral Invest* 7: 86–91
- Raharimalala V, Poggi Y, Filippini JC (1994) Influence of polymer morphology of water treeing. *IEEE Transaction on Dielectrics and Electrical Insulation* 1: 1094–1103
- Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH (1995) Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 20: 18–25
- Sano H, Yoshiyama M, Ebisu S, Burrow MF, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho RM, Pashley DH (1995) Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 20: 160–167
- Schupbach Krejci I, Lutz F (1997) Dentin bonding: effect of tubule orientation on hybrid-layer formation. *Eur J Oral Sci* 105: 344–352
- Soles CL, Yee AF (2000) A discussion of the molecular mechanisms of moisture transport in epoxy resins. *J Polymer Sci B: Polymer Physics* 38: 792–802
- Tay FR, Pashley DH (2003) Water treeing: a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent* 16: 6–12
- Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthaganun A (2002) Single-step adhesives are permeable membranes. *J Adhes Dent* 30: 472–476
- Tay FR, Lai CN, Chersoni S, Pashley DH, Mak YF, Suppa P, Prati C, King NM (2004) Osmotic blistering in enamel bonded with one-step self-etch adhesives. *J Dent Res* 83: 290–295
- Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G (2003) Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 28: 215–235
- Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G (1998) The clinical performances of adhesives. *J Dent* 26: 1–20
- Wiese KG (1993) Osmotically induced tissue expansion with hydrogels: a new dimension in tissue expansion? A preliminary report. *J Cran Surg* 21: 309–313
- Zong-Huai F, Yoshimura N (1996) Silver tree. *IEEE transaction on dielectrics and electrical insulation* 3: 131–135

S. Chersoni¹, G.L. Acquaviva², C. Prati²,
M. Ferrari¹, S. Grandini¹, D.H. Pashley³,
and F.R. Tay^{4*}

¹Department of Restorative Dentistry and Dental Materials, University of Siena, Italy; ²Department of Dental Sciences, University of Bologna, Italy; ³Department of Oral Biology and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Medical College of Georgia, Augusta, USA; and ⁴Pediatric Dentistry and Orthodontics, Faculty of Dentistry, Prince Philip Dental Hospital, University of Hong Kong, 34 Hospital Road, Pokfulam, Hong Kong, SAR, China; *corresponding author, kfctay@netvigator.com

J Dent Res 84(3):223-227, 2005

ABSTRACT

Fluid transudation through simplified dentin adhesives can occur in bonded vital crown dentin, since these adhesives behave as permeable membranes after polymerization. The effect of adhesive permeability in endodontically treated teeth is unknown. This study examined the hypothesis that *in vivo* fluid movement through simplified adhesives occurs when they are applied to root canals. Dowel spaces were prepared in endodontically treated teeth with single root canals. Six adhesives were applied to the intra-radicular dentin of canal walls. Impressions were obtained with polyvinyl siloxane, and replicas were fabricated with the use of polyether impression material. Replica hemisections were gold-coated for SEM examination. Fluid transudation was evident on the adhesive surfaces of all simplified total-etch and self-etch adhesives. Conversely, most of the specimens bonded with the control three-step total-etch adhesive were devoid of fluid droplets. Permeability of simplified adhesives results in water movement, even in root-treated dentin. This may adversely affect the coupling of auto-/dual-cured resin cements.

KEY WORDS: adhesive permeability, simplified adhesives, root canal, fluid transudation.

Received March 8, 2004; Last revision July 23, 2004; Accepted January 2, 2005

In vivo Fluid Movement through Dentin Adhesives in Endodontically Treated Teeth

INTRODUCTION

The development of dentin adhesives has reached a point where a genuine technological breakthrough cannot be expected without the input of paradigms from other scientific disciplines (Tay and Pashley, 2002). As existing bonding strategies are modified to create adhesives that are simpler and faster (Perdigão *et al.*, 2003), compromises have to be made when these adhesives are formulated with a reduced number of bonding steps (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

An immediate consequence of adhesive simplification is a sacrifice of the universality of the multi-bottle adhesives, with most of the simplified versions capable of bonding only to light-cured composites (Sanarens *et al.*, 2001; Pfeifer *et al.*, 2003). Although the adhesion of auto-/dual-cured composites may be improved with the adjunctive use of ternary catalysts that offset the acid-base incompatibility between acidic methacrylate monomers and tertiary amines (Suh *et al.*, 2003), the bonding efficacy of both simplified total-etch (Tay *et al.*, 2003b) and simplified self-etch adhesives (Tay *et al.*, 2003a) to auto-/dual-cured composites/resin cements is hampered by the intrinsic permeability of these adhesives to the water that results from their increase in hydrophilicity (Carvalho *et al.*, 2004; Chersoni *et al.*, 2004a).

Transudation of dentin fluid through simplified dentin adhesives has been shown to occur *in vivo* in bonded vital crown dentin (Chersoni *et al.*, 2004b; Tay *et al.*, 2004), since these adhesives behave as permeable membranes after polymerization (Tay *et al.*, 2002a). This may result in the entrapment of water blisters between the adhesive surface and slow-setting resin composites/cements. The water blisters may act as stress raisers and account for the apparent incompatibility of these adhesives with the bonding of indirect restorations, even in the absence of the true adhesive incompatibility derived from adverse acid-base reactions (Tay *et al.*, 2003a).

Although a positive pulpal pressure is absent in endodontically treated teeth, an increase in radicular permeability may follow reduction in root dentin thickness and removal of sealers that penetrated the dentinal tubules during the preparation of spaces for the cementation of endodontic posts (Fogel *et al.*, 1988; Guignes *et al.*, 1996). This is particularly so when total-etch adhesives and the aggressive type of self-etch adhesive (Tay and Pashley, 2001), that completely remove or dissolve the smear layers, are used for bonding to root canals (Tao *et al.*, 1991). Since vital teeth and endodontically treated teeth do not differ significantly in their moisture content (Papa *et al.*, 1994), the effect of adhesive permeability on bonding to root canals with conventional or simplified total-etch and self-etch adhesives is unknown. Thus, the objective of this *in vivo* study was to examine, by a novel impression replica technique (Chersoni *et al.*, 2004), the permeability of adhesive-bonded intra-radicular dentin to fluid movement. The null hypothesis tested was that there is no difference among the 4 different classes of dentin adhesives (*i.e.*, three-step total-etch, two-step total-etch, two-step self-etch, and one-step self-etch) in preventing fluid movement across bonded intra-radicular dentin.

MATERIALS & METHODS

Twenty-eight endodontically treated teeth with single root canals that required dowel retention as part of the restorative treatment plan were selected for the study. The root canals were previously obturated with vertically compacted warm gutta-percha and a root canal sealer (CRCS, Coltène AG, Altstätten, Switzerland). The patients were between 26 and 47 yrs of age, with a mean age of 36. The subjects' informed consent was obtained under an *in vivo* protocol reviewed and approved by an ethics committee from the University of Bologna. Preparation of dowel spaces and the subsequent bonding procedures were performed with the use of rubber dam isolation and an endodontic microscope (Karl Kaps, base model, Asslar, Wetzlar, Germany).

The coronal part of each root filling was removed, with a root canal filling of 5-6 mm remaining, and a post space was created for the insertion of a size 2 DT Light-Post (RTD, Grenoble, France), a radiopaque glass fiber post, by use of the corresponding drills. The residual thickness of remaining dentin around the dowel space of each tooth was evaluated radiographically to be at least 1.5 mm. Debridement was performed with distilled water under the microscope to ensure that the post space was free of cutting debris, and that the coronal portion of the remaining gutta-percha could be identified from the base of the post space. Prior to the bonding procedure, each post space was air-dried with a triple syringe equipped with a Stropko irrigator (SybronEndo, Orange, CA, USA) and further dried with 4 paper points to ensure that the post space was free from residual moisture (Hosoya *et al.*, 2000).

Experimental Design

Six dentin adhesives were randomly selected for application to 4 teeth in each experimental or control group. They included: All-Bond 2 (Bisco Inc., Schaumburg, IL, USA), a conventional three-step total-etch adhesive that was used as the control; Single Bond (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) and One-Step Plus (Bisco), as representatives of simplified two-step total-etch adhesives; Tyrian SPE/One-Step Plus (Bisco), a two-step self-etch adhesive; and Xeno III (Dentsply DeTrey, Konstanz, Germany) and One-Up Bond F (Tokuyama Corp., Tokyo, Japan), examples of simplified one-step self-etch adhesives.

Since the experimental protocol required a polymerized adhesive surface for impression-taking, the uncured Pre-Bond resin in All-Bond 2, that was to be placed over the primed dentin, was replaced with a mixture of Pre-Bond and D/E resin, so that a curable adhesive layer could be obtained (B.I. Suh, personal communication). For the 3 total-etch adhesives, the post spaces were blot-dried with paper points after the phosphoric acid was rinsed, to provide a moist substrate for the wet-bonding technique. Although the one-step self-etch adhesives were not recommended for the coupling of auto-cured composites, they were used with the understanding that the incompatibilities associated with these 2 adhesives were apparent in nature, and were attributed to the permeability of the adhesives instead of to adverse acid-base interactions (Tay *et al.*, 2003a). To ensure that subsequent restorative treatments were performed in the best interest of the subjects, we placed an additional thin coat of Scotchbond Multi-Purpose bonding resin (3M ESPE) over these adhesives and light-cured them after the experimental impression-taking protocol. This additional step converts these adhesives from one-step to two-step self-etch adhesives, making certain that they are compatible with auto-/dual-cured resin cements.

To ensure optimal curing, we applied each adhesive to the

post spaces with a microbrush, and light-cured it *via* a slightly undersized, non-bonding, light-transmitting plastic post (Luminex, Dentatus AB, Hagersten, Sweden), that was inserted into the post space and transilluminated from the top by means of a LED light-curing unit (L.E. Demetron 1, Sybron-Kerr, Orange, CA, USA) for 40 sec at an output of 800 mW/cm². Since the uncured adhesive caused by oxygen inhibition must be removed prior to impression-taking, a second coat of the adhesive was applied. Removal of the adhesive oxygen inhibition layer was performed by means of acetone and a microbrush.

The bonded post space was air-dried for 10 sec by insertion of the Stropko irrigator into the root canal. An impression was immediately taken with a polyvinyl siloxane impression material (Affinis light-body, Coltène AG). The material was injected into the post space and distributed by means of a spiral, followed by the insertion of the previously used plastic post as an anchor. After 4 min, the polymerized impression material was removed and degassed for 24 hrs. Positive replicas were then fabricated with a polyether impression material (Permadyne Garant, 3M ESPE), with the polyvinyl siloxane negative replica used as a mold, according to the polyether replica technique reported by Chersoni *et al.* (2004a). Since there is no chemical reaction between polyether and polyvinyl siloxane, this replica technique has been shown to be effective in replicating water exudation from dentin hybrid layers. The polyether replicas were cut into hemisections by means of a sharp razor blade, coated with gold/palladium, and examined under a scanning electron microscope (SEM; Model 5400, JEOL, Tokyo, Japan) at 5-10 kV. Five SEM images of each of the 4 post spaces in each group were taken randomly from different areas of the replicas (N = 20). The number of fluid droplets/1000 μm^2 of polymerized adhesive was recorded by two co-authors who did not participate in bonding and were unaware of the group designations. Data from the 6 groups were statistically analyzed by Kruskal-Wallis ANOVA and Dunn's multiple-comparison tests at $\alpha = 0.05$.

Controls

The remaining 4 dowel spaces were not bonded with adhesives and were used as controls. For 2 of these dowel spaces, impressions were taken of the smear-layer-covered intra-radicular dentin after the cutting debris was rinsed off and the dentin dried with paper points. For the other 2 dowel spaces, impressions were taken of the intra-radicular dentin after being acid-etched with 32% phosphoric acid (Uni-etch, Bisco) for 15 sec, then rinsed and dried with paper points. Polyvinyl siloxane replicas were prepared and examined as previously described.

RESULTS

Fluid droplets could be identified from the control unbonded dowel spaces with intact smear layers (Fig. 1A) and after acid-etching (Fig. 1B). All-Bond 2, the control three-step total-etch adhesive, exhibited no fluid transudation across the polymerized adhesive in 3 of the specimens examined (Fig. 1C), and minimal fluid droplets were observed only in the fourth specimen (Fig. 1D).

By contrast, ample fluid droplets were seen along the polymerized adhesive surfaces in the simplified two-step total-etch adhesives Single Bond (Fig. 2A) and One-Step Plus (Fig. 2B).

Fluid droplets along the adhesive surface were also observed in the intra-radicular dentin bonded with the non-

rinsing, two-step self-etch adhesive Tyrrian SPE/One-Step Plus (Fig. 3A). Similarly, fluid droplets were seen in specimens bonded with the simplified one-step self-etch adhesives Xeno III (Fig. 3B) and One-Up Bond F (Fig. 3C). Based on morphologic examination, the sizes of the fluid droplets were smaller in the self-etch adhesives.

Data on the distribution of fluid droplets are summarized in the Table. All Bond 2 exhibited significantly fewer fluid droplets than the other 5 experimental groups ($P < 0.05$). There were no differences in the numbers of fluid droplets/1000 μm^2 among the other 5 groups (Fig. 3D).

DISCUSSION

The results of this *in vivo* study warrant a rejection of the null hypothesis that there is no difference among the different classes of dentin adhesives in preventing fluid movement across bonded intra-radicular dentin. The observation of fluid droplets in bonded root-treated dentin was similar to our previous observations of dentinal fluid transudation from vital bonded deep dentin (Chersoni *et al.*, 2004b; Tay *et al.*, 2004), although, in the latter, there was a propensity for more profuse fluid droplets to be formed.

Since root canal sealers can penetrate only 35-80 μm into the dentinal tubules, even with complete smear layer removal (Kouvas *et al.*, 1998), residual dentinal tubules are likely to be devoid of sealers when dentin thickness is reduced after post space preparation. Rinsing with water during the course of a total-etch technique probably results in the retention of substantial amounts of water within the widened tubular entrance created by acid-etching, that may not be completely removed *via* the use of paper points. This may account for the occurrence of larger fluid droplets in the simplified total-etch adhesives (Figs. 2A, 2B). With the use of self-etch adhesives, we speculated that water could have been partially derived from the residual water that is retained in these water-containing adhesives (Tay *et al.*, 2002b), and partially from the unbound water that is present in pulpless teeth (Helfer *et al.*, 1972; Papa *et al.*, 1994). Since the

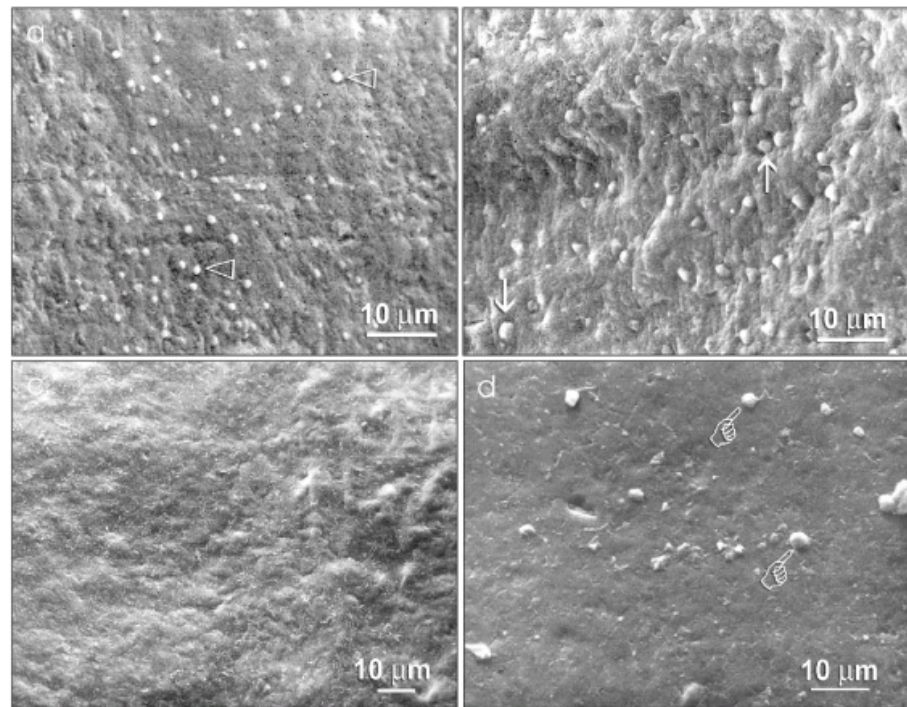


Figure 1. SEM micrographs of replicas of post spaces in endodontically treated teeth. (A) An unbonded post space with smear layer intact, showing the transudation of water droplets through the smear layer (open arrowheads). (B) An unbonded post space after acid-etching, showing the presence of water droplets over the tubular orifices (arrows). (C,D) Post spaces bonded with All-Bond 2, a three-step total-etch adhesive, in preparation for cementation of fiber posts. (C) A representative example of the bonded root dentin that was completely devoid of fluid movement through the adhesive. (D) A representative example of the root dentin in which there was minimal fluid movement through the adhesive, resulting in the presence of discrete fluid droplets (pointers) along the adhesive surface. These water droplets were trapped during the setting of the polyvinyl siloxane impression material.

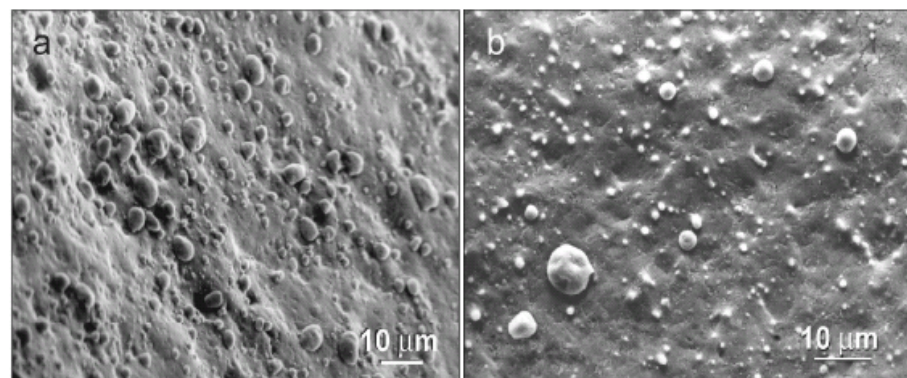


Figure 2. SEM micrographs of replicas of root canal walls that were bonded with simplified, two-step total-etch adhesives: (A) Single Bond, and (B) One-Step Plus. Numerous fluid droplets were present on the surfaces of the polymerized adhesives.

smear plugs were not removed with the use of these self-etch adhesives (Tay and Pashley, 2001), this could have resulted in the appearance of smaller fluid droplets (Figs. 3C, 3D). In this study, we have refrained from recording the actual dimensions of these fluid droplets, due to the inaccuracy involved with interpretation of micrographs that were taken at different specimen tilts. The volume of fluid that permeates these adhesive in intra-radicular dentin should be quantified in the

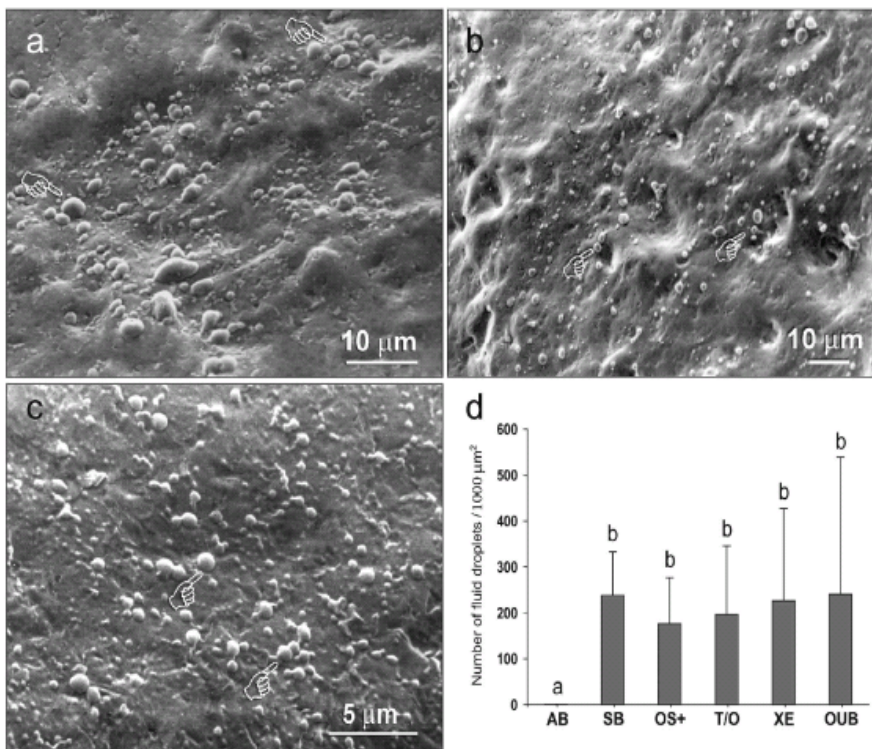


Figure 3. SEM micrographs of replicas of root canal walls that were bonded with self-etch adhesives: (A) Tyrian/One-Step Plus, a two-step self-etch system; (B) Xeno III, a one-step self-etch adhesive; and (C) One-Up Bond F, a one-step self-etch adhesive. Numerous fluid droplets (pointers) were present on the surfaces of the polymerized adhesives. (D) Bar chart comparing the number of fluid droplets/1000 μm^2 of adhesive surface in the 6 adhesive groups ($N = 20$). Groups with the same lower-case letter over the top of the bar are not statistically significant ($P > 0.05$). Abbreviations: AB, All-Bond 2; SB, Single Bond; OS+, One-Step Plus; T/O, Tyrian SPE/One-Step Plus; XE, Xeno III; and OUB, One-Up Bond F.

future by means of fluid filtration protocols (Fogel *et al.*, 1988; Abramovitz *et al.*, 2001) or electrical impedance methods (Momoi *et al.*, 2003).

Previous fluid transport studies reported the presence of an inferior seal along the coronal two-thirds of the root-filled canals after post space preparation, when compared with intact root fillings (Abramovitz *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2003). Presumably, the use of dentin adhesives would improve the

coefficient that the permeability of the coatings can be substantially reduced. This could have accounted for the permeability observed for Tyrian SPE/One-Step Plus. The permeability of other two-step self-etch adhesives in endodontically treated teeth should be further examined.

Although the use of bonded posts has been clinically successful, a recent SEM study of endodontically treated teeth extracted after clinical service reported that subclinical gap formation and adhesive failures occurred along the resin-dentin interfaces, in spite of the absence of clinical failure (Mannocci *et al.*, 2003). Unfavorable cavity configuration factors in post spaces have been cited as the major reason for low bond strengths and marginal gap formation (Morris *et al.*, 2001; Bouillaguet *et al.*, 2003). Slow-setting resin cements have been recommended to offset the development of high polymerization shrinkage stresses along root canal walls (Goracci *et al.*, 2004). The extended setting time for these resin cements, which is perceived to be beneficial in reducing shrinkage stresses, may be offset by the use of simplified total-etch or self-etch adhesives, since this prolongs the time for water diffusion through the adhesives, creating fluid blisters along the adhesive-cement interface that act as stress-raisers and precipitate bond failure (Carvalho *et al.*, 2004). In the event that coronal leakage occurs during functional stresses, leaching of resin components from these highly hydrophilic adhesives may

seal of this critical region, minimize coronal leakage, and improve the prognosis of endodontic therapy. However, the *in vivo* observation of fluid transudation through simplified adhesives in endodontically treated teeth suggests that a hermetic seal of the coronal third of root canals is unlikely to be achieved with the use of either simplified total-etch or self-etch adhesives. Theoretically, the use of a two-step self-etch adhesive should minimize water movement through the adhesive (Carvalho *et al.*, 2004). However, the system we examined utilizes a fairly permeable adhesive (One-Step Plus; Fig. 2B) over the intraradicular dentin that was treated with the self-priming etchant Tyrian SPE. Nguyen *et al.* (1996) investigated the permeation of water through multiple layers of organic resin coatings. They observed that increasing the number of coats of a hydrophilic resin affected only the time required for water to move from the outside to the inside of the coatings, but did not reduce the permeability of the coatings. It is only when a polymer exhibits a notable change in diffusion

Table. Number of Fluid Droplets that Appeared on the Surface of the Bonded Intra-radicular Dentin of the Root Canals in the Six Adhesives

Dentin Adhesive	Classification	Number of Fluid Droplets per 1000 μm^2 of Adhesive Surface ($N = 20$)*
All-Bond 2	3-step total-etch	1.1 \pm 2.2 ^a
Single Bond	2-step total-etch	238.0 \pm 92.5 ^b
One-Step Plus		176.4 \pm 98.6 ^b
Tyrian SPE/One-Step Plus	2-step self-etch	196.7 \pm 146.3 ^b
Xeno III	1-step self-etch	225.8 \pm 197.6 ^b
One-Up Bond F		240.4 \pm 293.0 ^b

* Values are means \pm standard deviation. Groups with the same letter superscript are not statistically significant ($P > 0.05$).

further contribute to the degradation of the bonds between the adhesive and intra-radicular dentin. Although simplified acidic adhesives may be rendered compatible with auto-/dual-cured resin cements via the use of ternary catalysts (Suh *et al.*, 2003), they must be used with caution for bonding to root canals, in light of the fluid movement that occurs through these adhesives under *in vivo* conditions. The use of conventional, less permeable adhesives appears to be a more rational alternative.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Paolo Ferrieri for technical assistance with the SEM. This study was based on the work performed by Stefano Chersoni in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy, the University of Siena, Italy. The adhesives examined were generous donations from 3M ESPE, Bisco, Inc., Dentsply DeTrey, and Tokuyama Corp. There was no remuneration paid directly to any of the investigators in the form of consultant's fees or other arrangements. This study was supported by grant 60% UNIBO 2002 and 2003, Italy, by grants DE 014911 and DE 015306 from the National Institute of Dental and Craniofacial Research (PI, David Pashley), and by grant 10204604/07840/08004/324/01 from the Faculty of Dentistry, University of Hong Kong. The authors are grateful to Michelle Barnes and Zinna Pang for secretarial support.

REFERENCES (AQ)

- Abramovitz L, Lev R, Fuss Z, Metzger Z (2001). The unpredictability of seal after post space preparation: a fluid transport study. *J Endod* 27:292-295.
- Bouillaguet S, Troesch S, Wataha JC, Krejci I, Meyer JM, Pashley DH (2003). Microtensile bond strength between adhesive cements and root canal dentin. *Dent Mater* 19:199-205.
- Carvalho RM, Pegoraro TA, Tay FR, Pegoraro LF, Silva NR, Pashley DH (2004). Adhesive permeability affects coupling of resin cements that utilize self-etching primers to dentine. *J Dent* 32:55-65.
- Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Ferrari M, Tay FR, Pashley DH, *et al.* (2004a). Water movement in the hybrid layer after different dentin treatment. *Dent Mater* 20:794-803.
- Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Yiu C, *et al.* (2004b). *In vivo* and *in vitro* permeability of one-step self-etch adhesives. *J Dent Res* 83:459-464.
- Fogel HM, Marshall FJ, Pashley DH (1988). Effects of distance from the pulp and thickness on the hydraulic conductance of human radicular dentin. *J Dent Res* 67:1381-1385.
- Goracci C, Tavares AU, Fabianelli A, Monticelli A, Raffaelli O, Cardoso PEC, *et al.* (2004). The adhesion between fiber posts and root canal walls: comparison between microtensile and push-out bond strength measurements. *Eur J Oral Sci* 112:353-361.
- Guignes P, Faure J, Maurette A (1996). Relationship between endodontic preparations and human dentin permeability measured *in situ*. *J Endod* 22:60-67.
- Helfer AR, Melnick S, Schilder H (1972). Determination of the moisture content of vital and pulpless teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 34:661-670.
- Hosoya N, Cox CF, Arai T, Nakamura J (2000). The walking bleach procedure: an *in vitro* study to measure microleakage of five temporary sealing agents. *J Endod* 26:716-718.
- Kouvas V, Liolios E, Vassiliadis L, Parisis-Messimeris S, Boutsioukis A (1998). Influence of smear layer on depth of penetration of three endodontic sealers: an SEM study. *Endod Dent Traumatol* 14:191-195.
- Mammocchi F, Bertelli E, Watson TF, Ford TP (2003). Resin-dentin interfaces of endodontically-treated restored teeth. *Am J Dent* 16:28-32.
- Momoi Y, Akimoto N, Kida K, Yip KH, Kohno A (2003). Sealing ability of dentin coating using adhesive resin systems. *Am J Dent* 16:105-111.
- Morris MD, Lee K-W, Agee KA, Bouillaguet S, Pashley DH (2001). Effects of sodium hypochlorite and RC-prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *J Endod* 27:753-757.
- Nguyen T, Byrd E, Bentz D, Lin C-J (1996). *In situ* measurement of water at the organic coating/substrate interface. *Proc Org Coat* 27:181-193.
- Papa J, Cain C, Messer HH (1994). Moisture content of vital vs endodontically treated teeth. *Endod Dent Traumatol* 10:91-93.
- Perdigão J, Duarte S Jr, Lopes MM (2003). Advances in dentin adhesion. *Compend Contin Educ Dent* 24:10-16.
- Pfeifer C, Shih D, Braga RR (2003). Compatibility of dental adhesives and dual-cure cements. *Am J Dent* 16:235-238.
- Sanares AM, Itthagarun A, King NM, Tay FR, Pashley DH (2001). Adverse surface interactions between one-bottle light-cured adhesives and chemical-cured composites. *Dent Mater* 17:542-556.
- Suh BI, Feng L, Pashley DH, Tay FR (2003). Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and self-cured or dual-cured composites. Part III. Effect of acidic resin monomers. *J Adhes Dent* 5:267-282.
- Tao L, Anderson RW, Pashley DH (1991). Effect of endodontic procedures on root dentin permeability. *J Endod* 17:583-588.
- Tay FR, Pashley DH (2001). Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater* 17:296-308.
- Tay FR, Pashley DH (2002). Dental adhesives of the future. *J Adhes Dent* 4:91-103.
- Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A (2002a). Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent* 30:371-382.
- Tay FR, King NM, Chan KM, Pashley DH (2002b). How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? *J Adhes Dent* 4:255-269.
- Tay FR, Pashley DH, Yiu CKY, Sanares AME, Wei SHY (2003a). Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and self-cured or dual-cured composites. Part I. Single-step self-etch adhesive. *J Adhes Dent* 5:27-40.
- Tay FR, Suh BI, Pashley DH, Prati C, Chuang SF, Li F (2003b). Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and self-cured or dual-cured composites. Part II. Single-bottle, total-etch adhesive. *J Adhes Dent* 5:91-105.
- Tay FR, Frankenberger R, Krejci I, Bouillaguet S, Pashley DH, Carvalho RM, *et al.* (2004). Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerization. I. *In vivo* evidence. *J Dent* 32:611-621.
- Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, *et al.* (2003). Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 28:215-235.
- Wu MK, van der Sluis LW, Ardila CN, Wesselink PR (2003). Fluid movement along the coronal two-thirds of root fillings placed by three different gutta-percha techniques. *Int Endod J* 36:533-540.

Capitolo 4

The protection of vital abutments in prosthetic preparations. An in vivo study

Stefano Chersoni, Giovanni Luca Acquaviva, Pietro Suppa, Marco Ferrari, Paolo Ferrieri, Franklin R. Tay and Carlo Prati

Department of Dental Sciences of the University of Bologna

CORRESPONDENCE: Stefano Chersoni, Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, Reparto di Endodonzia, University of Bologna, via San Vitale 59, 40125 Bologna, Italy
e-mail: steche@alma.unibo.it

An important objective in prosthetic dentistry is to obtain marginal closure guaranteed by the presence of enamel. The use of temporary cements, especially in teeth having a reduced amount of hard tissues, could lead to a microleakage of bacteria and related products¹. An alternative approach to preserve the health of the pulpal-dentinal complex consists in sealing the exposed dentin by using resin bonding systems before taking impressions².

The studies on nanoleakage by means of silver nitrate demonstrated the presence of areas that have a large amount of water and/or hydrophilic monomers in the hybrid layer and in the bonding resin layer. These areas were shown by Transmission Electron Microscopy and defined as water trees³. Water trees are real miniature channels that are considered responsible for the passage of fluids from the underlying hydrated dentin, through the bonding layer all the way to the interface with the composite³⁻⁵. The extent of nanoleakage increases with time in relation to water absorption⁶.

There are up to now no studies in literature

that evaluate, *in vivo* and over time, permeability of dentinal bonding systems applied to exposed dentin.

The aim of the present study is to evaluate the passage of fluids through bonding systems that have been applied to protect prosthetic abutment preparations at three different times: immediately after application and after 1 and 6 months.

MATERIALS AND METHODS

18 vital teeth without carious lesions or fractures needing prosthetic treatment were selected for the study. The patients had an average age of 48 years. To avoid any modification of pulp pressure an anaesthetic without vasoconstrictor was used: carbocaine 3% (Astra, Sweden). The teeth were carefully isolated by means of a rubber dam and preparatory work was carried out by means of a turbo drill and medium grit Intensiv diamond burs, in order to obtain prosthetic abutments. The teeth were divided in 3 groups: I, II and III. To the teeth belonging

SUMMARY

Aim The aim of this study was to evaluate if bonding system use enables to protect *in vivo* prosthetic crown preparations. This procedure is potentially able to seal exposed dentin so that irritating agents can't reach the pulpal tissue.

Materials and methods 18 teeth without carious lesions that needed prosthetic treatment were selected for this study. Two bonding agents were used: a self-etching adhesive (Clearfil SE BOND) and a total-etching adhesive (Prime & Bond NT). An evaluation was carried out with a replica system: polyvinylsiloxane impressions for prosthetic crown preparation were taken after the application of the bonding agent and at one and six months after the first application. Polyether replicas were obtained using the silicon impression as a mould. Replicas were then observed under the SEM.

Results Fluid movement through the adhesive layer was morphologically put in evidence by bubble formation on crown preparation surface. Time tends to increase this phenomenon.

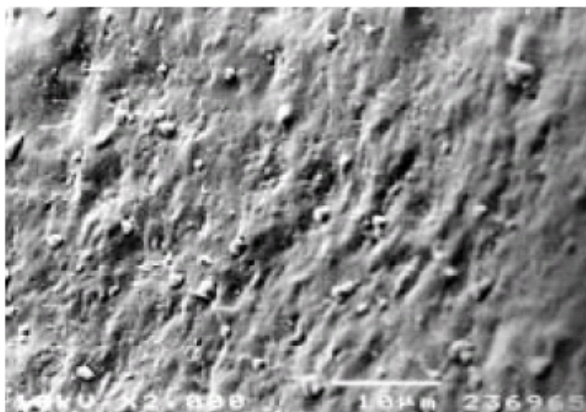
Conclusions The application of the bonding agent can't protect exposed dentin and irritating agents can reach the pulpal tissue because of a permeability phenomenon. Permeability can be responsible for dentinal post-surgical sensitivity. In addition fluid movement through bonding agents is able to prevent adhesive cementation procedures.

KEY WORDS

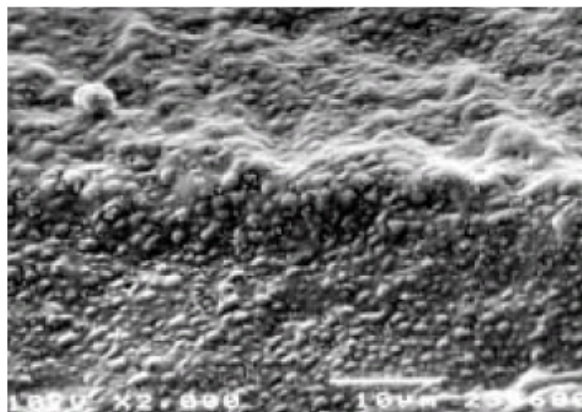
bonding systems, permeability

to Group I, the Clearfil SE BOND (Kuraray, Japan) adhesive was applied. To the teeth belonging to Group II, the Prime & Bond NT (Dentsply, Germany) adhesive was applied. The remaining teeth were included in control Group III, and did not receive any type of treatment. Each group was made up of 6 teeth.

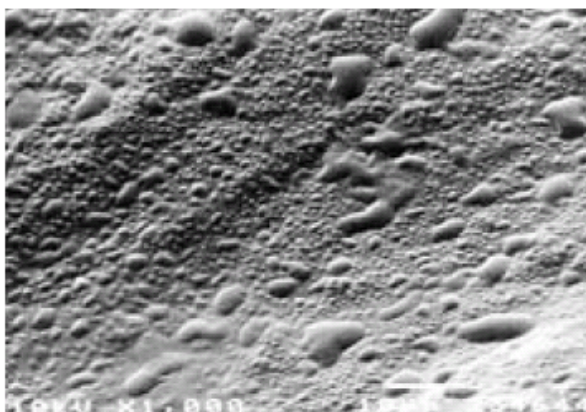
All the material utilized was applied according to manufacturers' instructions. A unit that had been previously tested was used to cure the adhesive, with an intensity not lower than 600 mW/cm² (Visilux Command 2, 3M, MN, USA). The adhesive layer, inhibited by oxygen, was removed by means of cotton pellets dipped in acetone. The surface of the abutments was thoroughly dried with compressed air for 10 seconds. We took the first impression immediately after application of the adhesive. The samples were covered with impression material, a polyvinylsiloxane-based material (Affinis light body, COLTENE, Switzerland). After six minutes the material was removed from the teeth. The temporary crowns were temporarily cemented with Temp Bond NE



1. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burrs; the presence can be noted of some bubbles of dentinal fluid that are due to the permeability connected with the smear layer.



2. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burrs after one month. Notice that the entire surface is covered with bubbles of dentinal fluid.



3. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burrs after six months, where the surface is completely covered with dentinal fluid.

(Kerr, USA). The operating procedure did not permit to perform direct relining of the temporaries. One month later, after being isolated with a rubber dam, the abutments were thoroughly cleansed with cotton pellets and acetone and a second impression was taken.

Six months later, before finally cementing the crowns, a further impression was taken following the same procedure as before. Replicas were obtained by taking an impression with a polyether material (Perma-dyne Garant, 3M ESPE, USA) of the impressions that had been taken previously. The polyvinylsiloxane-based impressions were poured after at least 48 hours to avoid the re-

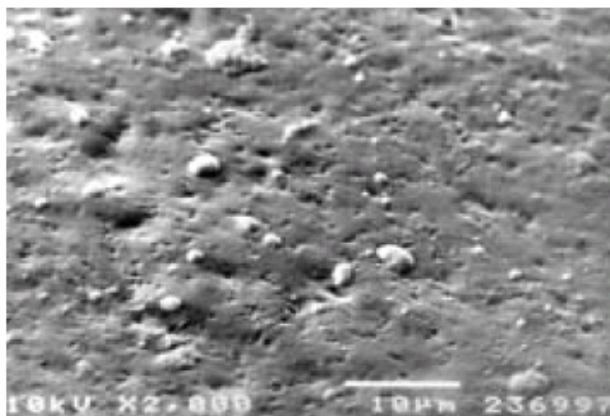
lease of gas by the material. The replicas were cast with gold and observed at SEM (JEOL, Model 5400, Japan) with enlargements of X1000 and X2000. The replica procedure agrees with the findings described in a previous study⁷.

RESULTS

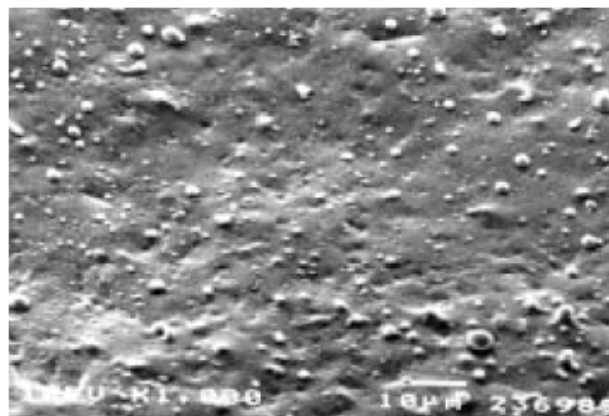
SEM analysis of the replicas showed the presence of bubbles in all the samples observed. Bubbles represent a morphological expression of the presence of fluid that is imprinted by hydrophobic silicone^{7,8}. The abutments that had just been prepared and

covered by a smear layer showed the presence of some bubbles of fluid (figure 1). The presence of dentinal fluids is extremely evident in the replica made one month after tooth preparation (figure 2) and has a similar morphology after six months (figure 3). The replicas of the preparations of the teeth belonging to Group I displayed the presence of fluids and therefore, of bubbles covering vast areas of the bonding surface observed (figure 4). Some areas were perfectly sealed and did not present bubbles.

The replicas that were made after one and six months showed a progressive increase in the number and dimensions of the bubbles, as set out in figures 5 and 6.



4. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burs and protected with the self-etch bonding system Clearfil SE Bond. Notice the presence of some bubbles on the surface.



5. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burs and protected with the self-etch bonding system Clearfil SE Bond. One month after application the presence of fluids increases.



6. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burs and protected with a self-etch bonding system Clearfil SE Bond at six months from the application. It may be clearly seen that a large part of the surface is thickly covered with bubbles.

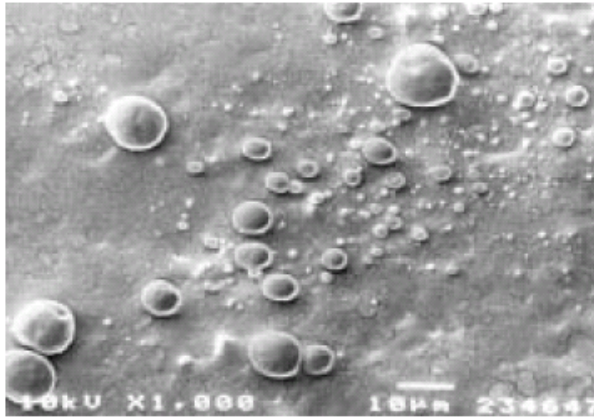
The replicas of the preparations of the teeth belonging to Group II displayed a greater initial permeability (figure 7) than the teeth in Group I. Moreover, replicas made after one (figure 8) and six months (figure 9) were being completely covered with bubbles.

DISCUSSION

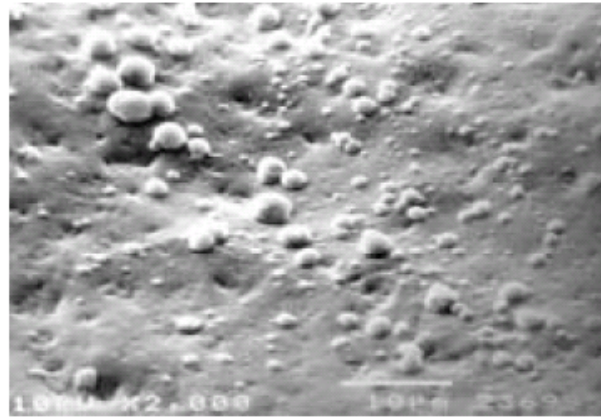
Recent studies showed that bonding systems are able to guarantee a partial seal at dentinal level^{9,10}. The present study proves *in vivo* that the dentinal bonding systems that were tested are permeable to fluids and that this permeability progressively tends to in-

crease over time. The study confirms *in vivo* that the smear layer is only able to maintain complete dentin permeability for a limited period of time. Smear layers and smear plugs are able to increase resistance to the passage of fluids by 86% of the maximum permeability found in deep dentin¹¹. The modern bonding systems that were considered useful to protect exposed dentin cannot provide an appropriate seal; on the contrary, they demonstrate permeability that progressively increases with time. Recent studies have demonstrated that bonding systems behave as semi-permeable membranes^{12,13}. This permeability is potentially able to interfere with resin cement adhesion systems,

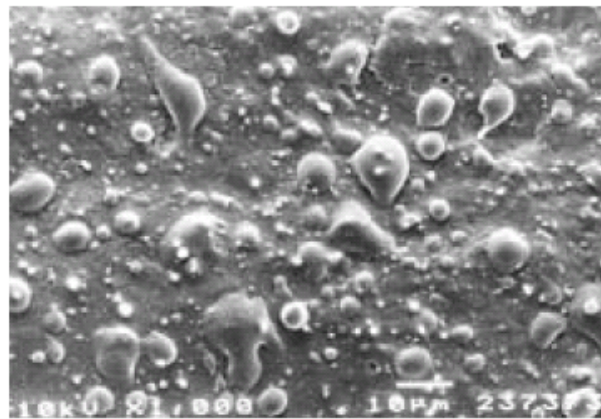
since the presence of fluid can easily interpose between the hydrophobic cement and the bonding itself, creating an interface with reduced bonding retention capacity¹⁴. Resin cements applied on a substratum that allows the passage of fluids may be subject to an emulsion phenomenon during polymerisation procedures, with formation of resin globules due to the presence of water¹⁵. Self-curing cements with a long polymerisation time are undoubtedly more susceptible to this problem. The formation of areas in which adhesion is not obtained potentially leads to create micro-areas that can be colonised by bacteria, which are in contact with the underlying dentin that is not pro-



7. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burs and protected with a total-etch bonding system Prime & Bond NT. Notice the presence of large bubbles of dental fluid.



8. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burs and protected with a total-etch bonding system Prime & Bond NT. After one month it is clear that a large part of the surface is permeable to dental fluid.



9. Scanning electron microscopy image of the replica of a tooth prepared with diamond burs and protected with a total-etch bonding system Prime & Bond NT. After six months the increase in permeability is evident.

tected by a covering layer of adhesive. This situation could determine direct communication between oral environment and dentin through the resin in the bonding system. Bonding system permeability allows water absorption by resins¹⁶ and, furthermore, it facilitates the spread of hydrolytic enzymes. All this is potentially able to determine a progressive deterioration of the bonding system, which is well known in literature¹⁷⁻²². Bonding system permeability can be correlated to the presence of post-surgical tooth sensitivity, in accordance with the hydrodynamic theory. The self-etching system has demonstrated less immediate permeability and this is in accordance with a study⁵ that

assumes an incomplete removal of the smear plugs and of the hydroxyapatite that lines the collagen fibres, which results from the use of the system. Self-etching systems having a less aggressive etching action seem able to provide reduced initial permeability, which in any event tends to increase progressively with time.

The present study provides morphological evidence showing, *in vivo*, the presence of a phenomenon that is well known *in vitro*. This type of method is not able to provide a quantitative assessment, but has the advantage of allowing repeated evaluations on the same substratum and in standardisable conditions. The evolution of new bonding systems must

address the reduction of the permeability problem, to provide the clinician with bonding systems that are reliable and long lasting.

CONCLUSIONS

The results of the present study enable to state that bonding systems do not allow to re-establish a complete seal of the exposed dentin. Furthermore, bonding system permeability tends to increase progressively with time. Clinical bonding procedures with self-curing or dual-curing systems, in absence of light curing, must be considered situations with a very high risk of failure.

Protezione di preparazione protesiche di monconi vitali. Studio in vivo

Stefano Chersoni, Giovanni Luca Acquaviva, Pietro Suppa, Marco Ferrari, Paolo Ferrieri, Franklin R. Tay, Carlo Prati

Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche

CORRISPONDENZA: Stefano Chersoni, Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, Reparto di Endodonzia, Università di Bologna, via San Vitale 59, 40125 Bologna, Italia
e-mail: steche@alma.unibo.it

Un importante obiettivo dell'odontoiatria protesica è quello di ottenere un sigillo marginale garantito dalla presenza dello smalto. L'utilizzo di cementi provvisori, specialmente in elementi dentari con ridotta quantità di tessuti duri, può consentire una microinfiltrazione di batteri e di loro prodotti¹. Un approccio alternativo per preservare la salute del complesso pulpo-dentale consiste nel sigillare la dentina esposta mediante l'uso di sistemi adesivi a base resinosa prima di effettuare le impronte².

Gli studi sul *nanoleakage* mediante l'utilizzo del nitrato d'argento hanno dimostrato la presenza di regioni ricche di acqua e/o monomeri idrofilici nello spessore dell'*hybrid layer* e nello strato di resina adesiva. Queste aree sono state evidenziate al microscopio elettronico a trasmissione e definite *water tree*³. Gli *water tree* sono dei veri e propri canali in miniatura ritenuti responsabili di passaggio di fluidi dalla sottostante dentina idratata attraverso lo strato di adesivo fino all'interfaccia con il composito³⁻⁵. L'entità del *nanoleakage* aumenta inoltre nel tempo in relazione all'assorbimento di acqua⁶. Non esistono in letteratura a tutt'oggi studi che valutano *in vivo* e nel tempo la permeabilità dei sistemi adesivi dentali applicati su dentina esposta.

RIASSUNTO

Obiettivi Scopo del presente studio è stato quello di valutare *in vivo* la possibilità di ottenere una protezione dei monconi protesici mediante l'utilizzo di sistemi adesivi. Tale procedura è potenzialmente in grado di sigillare la dentina esposta consentendo una protezione dagli agenti irritanti in grado di raggiungere il tessuto pulpare.

Materiali e metodi Sono stati selezionati 18 elementi dentari sani destinati a ricevere una corona protesica. Sono stati applicati due sistemi adesivi, un *self-etch* (Clearfil SE BOND) e un *total-etch* (Prime & Bond NT), ed è stata effettuata una valutazione mediante l'utilizzo di repliche ottenute sviluppando in polietilene impronte eseguite in polivinilsilossano. Le impronte sono state rilevate immediatamente dopo l'applicazione dei sistemi adesivi e a distanza di 1 e 6 mesi. Le repliche ottenute sono state metallizzate e osservate al SEM.

Risultati Il passaggio di fluidi attraverso lo strato di adesivo si è evidenziato morfologicamente nelle repliche osservate al microscopio elettronico con la presenza di bolle che ricoprono la superficie. Tale fenomeno tende ad aumentare di intensità nel tempo.

Conclusioni L'applicazione di sistemi adesivi non è in grado di proteggere la dentina esposta che risulta soggetta a fenomeni di permeabilità a sostanze potenzialmente irritanti. Clinicamente la permeabilità è correlabile alla presenza di sensibilità dentinale postoperatoria. Inoltre si può affermare che il passaggio di fluidi attraverso i sistemi adesivi è in grado di ostacolare le procedure di cementazione adesiva.

PAROLE CHIAVE

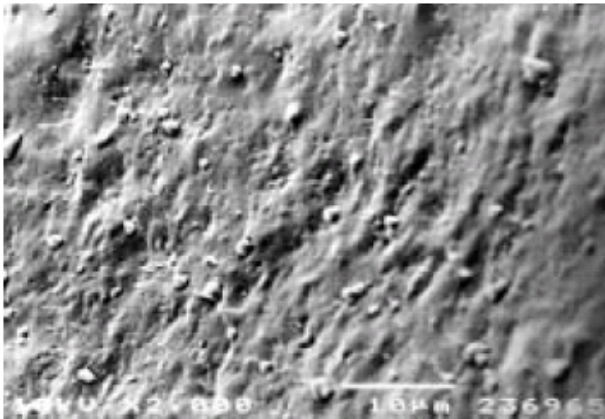
sistemi adesivi, permeabilità

Scopo del presente studio è stato quello di valutare il passaggio di fluidi attraverso sistemi adesivi, applicati con l'obiettivo di proteggere monconi protesici, in tre differenti momenti: immediatamente dopo l'applicazione e a distanza di 1 e 6 mesi.

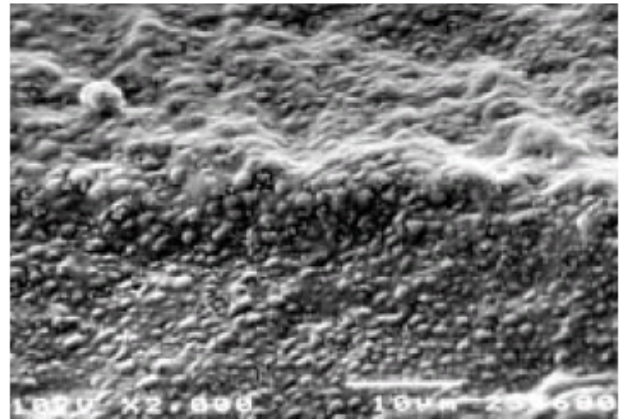
MATERIALI E METODI

Ai fini dello studio sono stati selezionati 18 elementi dentari vitali privi di lesioni cariose, abrasioni o fratture, destinati alla ricostruzione protesica mediante corone. I pazienti presentavano un'età media di 48 anni. Per evitare qualsiasi modificazione della pressione pulpare, si è utilizzato un anestetico privo di vasocostrittore: carbocaina 3% (Astra, Svezia).

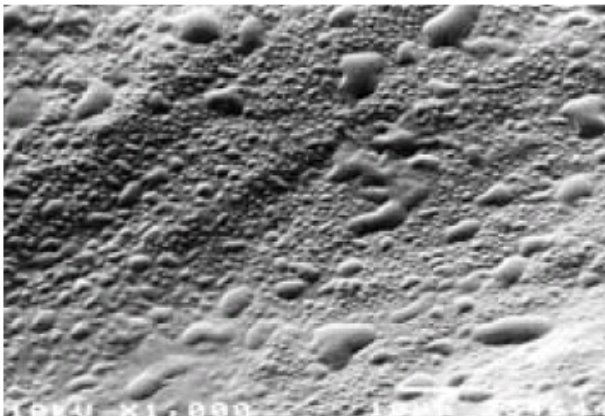
Gli elementi dentari sono stati accuratamente isolati mediante l'uso della diga di gomma e le preparazioni sono state eseguite mediante turbotrapano e frese diamantate Intensiv a grana media al fine di ottenere monconi protesici. Gli elementi sono stati divisi in 3 gruppi: I, II e III. Agli elementi dentari appartenenti al gruppo I è stato applicato l'adesivo Clearfil SE BOND (Kuraray, Giappone). Agli ele-



1. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate; si nota la presenza di alcune bolle di fluido dentinale che sono dovute alla permeabilità correlata allo smear layer.



2. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate a distanza di un mese. È possibile evidenziare come tutta la superficie sia ricoperta da bolle di fluido dentinale.



3. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate a distanza di sei mesi dove la superficie è completamente ricoperta di fluido dentinale.

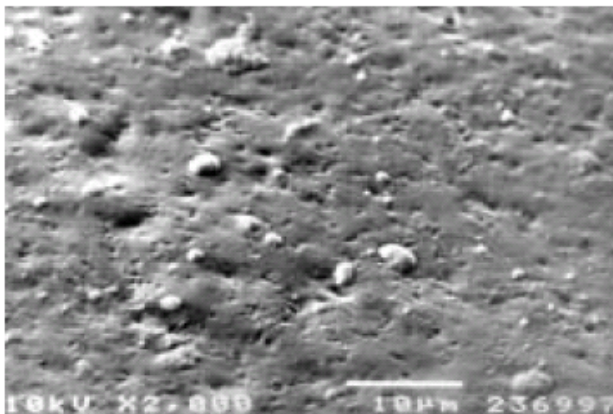
menti dentari appartenenti al gruppo II è stato applicato l'adesivo Prime & Bond NT (Dentsply, Germania). I restanti elementi dentari sono stati inclusi nel gruppo III, di controllo, e non hanno ricevuto nessun trattamento. Ogni gruppo era costituito da 6 elementi dentari.

Tutti i materiali sono stati utilizzati secondo le indicazioni fornite dalle case produttrici. Per la polimerizzazione degli adesivi è stata usata una unità precedentemente testata con intensità non inferiore a 600 mW/cm² (Visilux Command 2, 3M, MN, USA). Lo strato di adesivo inibito dall'ossigeno è stato rimosso mediante *pellet* di cotone imbevuto di acetone. La superficie dei monconi è stata quindi accuratamente asciugata per 10 secondi mediante aria compressa. È stata effettuata una prima impronta immediatamente dopo l'applicazione dell'adesivo. I campioni sono stati ricoperti con il mate-

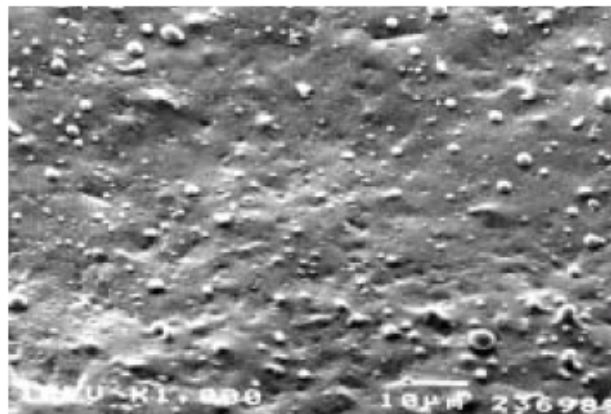
riale da impronta, un polivinil silossano (Affinis light body, COLTENE, Svizzera). Dopo sei minuti il materiale è stato separato dall'elemento dentario. Le corone provvisorie sono state quindi cementate provvisoriamente mediante Temp Bond NE (Kerr, USA). La procedura operativa ha escluso la possibilità di effettuare ribasature dirette dei provvisori.

A distanza di un mese, previo isolamento con diga di gomma, è stata effettuata una seconda impronta del moncone, dopo accurata detersione dei residui del cemento provvisorio mediante *pellet* di cotone e acetone.

A distanza di sei mesi, prima di cementare definitivamente le corone, è stata eseguita una ulteriore impronta con la medesima procedura adottata in precedenza. Le repliche sono state ottenute sviluppando con un polietere (Permadyne Garant, 3M ESPE, USA) le



4. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate e protetto con il sistema adesivo self-etch Clearfil SE Bond a distanza di sei mesi dall'applicazione. È ben visibile come gran parte della superficie sia fittamente ricoperta da bolle.



5. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate e protetto con il sistema adesivo self-etch Clearfil SE Bond. A distanza di un mese dall'applicazione aumenta la presenza di fluido.



6. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate e protetto con il sistema adesivo self-etch Clearfil SE Bond a distanza di sei mesi dall'applicazione. È ben visibile come gran parte della superficie sia fittamente ricoperta da bolle.

impronte precedentemente eseguite. Le impronte in polivinilsilossano sono state sviluppate a distanza di almeno 48 ore per evitare qualsiasi rilascio di gas da parte del materiale. Le repliche sono state metallizzate mediante oro e quindi osservate al SEM (JEOL, Model 5400, Giappone) a ingrandimenti di 1000x e 2000x. La procedura delle repliche è in accordo con quanto descritto in un precedente studio⁷.

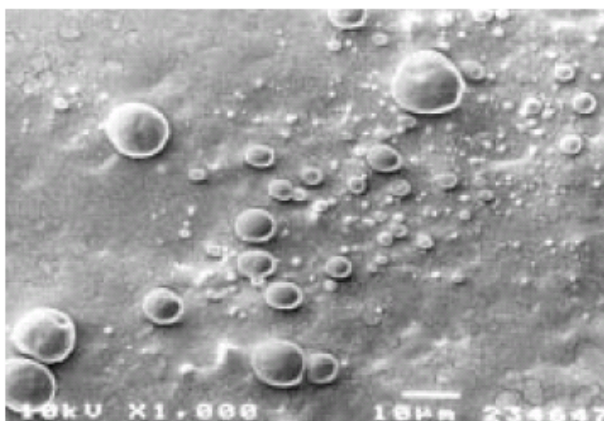
RISULTATI

L'analisi delle repliche al SEM ha permesso di constatare la presenza di bolle in tutti i campioni osservati. Le bolle rappresentano una manifestazione morfologica della presenza di fluido che vie-

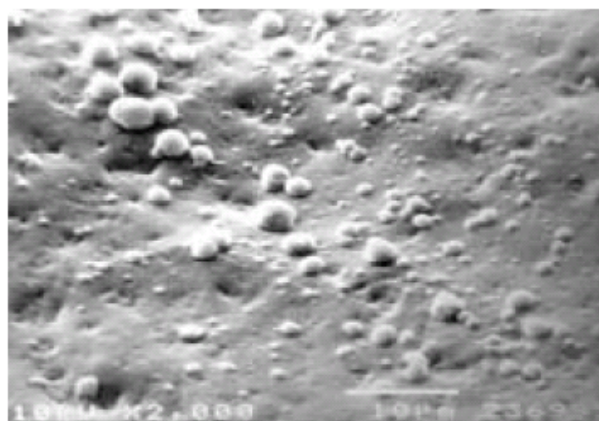
ne improntato dal silicone idrofobico^{7,8}. I monconi appena preparati e ricoperti da *smear layer* evidenziano la presenza di alcune bolle di fluido (figura 1). La presenza di fluidi dentinali è estremamente evidente nella replica effettuata dopo un mese dalla preparazione (figura 2) e si presenta con morfologia analoga trascorsi 6 mesi (figura 3).

Le repliche delle preparazioni degli elementi appartenenti al gruppo I dimostrano la presenza di fluidi e quindi di bolle che ricoprono ampie aree delle superfici di adesivo osservate (figura 4). Alcune zone risultano perfettamente sigillate e non presentano la formazione di bolle.

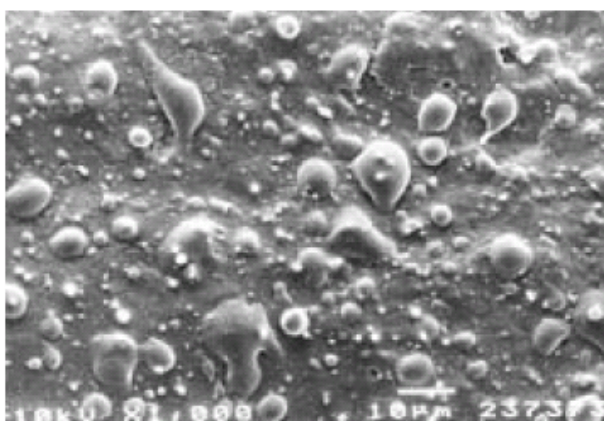
Le repliche effettuate a distanza di 1 e 6 mesi hanno evidenziato un progressivo incremento del numero e delle dimensioni delle bolle come mostrato dalle figure 5 e 6.



7. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate e protetto con il sistema adesivo total-etch Prime & Bond NT. Si osserva la presenza di ampie bolle di fluido dentinale.



8. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate e protetto con il sistema adesivo total-etch Prime & Bond NT. A distanza di un mese è evidente che gran parte della superficie è permeabile al fluido dentinale.



9. Immagine al microscopio elettronico a scansione di replica di elemento dentario preparato con frese diamantate e protetto con il sistema adesivo total-etch Prime & Bond NT. A distanza di sei mesi è evidente l'aumento di permeabilità.

Le repliche delle preparazioni degli elementi appartenenti al gruppo II hanno mostrato una permeabilità iniziale (figura 7) maggiore degli elementi del gruppo I. Inoltre le repliche effettuate a distanza di 1 (figura 8) e 6 mesi (figura 9) sono risultate completamente ricoperte da bolle.

DISCUSSIONE

Recenti studi hanno dimostrato che i sistemi adesivi sono in grado di garantire un sigillo parziale a livello dentinale^{9,10}. Il presente studio dimostra in vivo che i sistemi adesivi dentali testati risultano permeabili ai fluidi e che tale permeabilità tende progressivamente ad aumentare nel tempo.

Lo studio conferma in vivo che lo *smear layer* non è in grado di mantenere la permeabilità dentinale di piccola entità se non per un periodo limitato nel tempo. Lo *smear layer* e gli *smear plug* sono in grado di aumentare la resistenza al passaggio di fluidi per l'86% della permeabilità massima che si ha in dentina profonda¹¹. I moderni sistemi adesivi ritenuti utili al fine di proteggere la dentina esposta non sono in grado di garantire un adeguato sigillo e, al contrario, manifestano una permeabilità che progressivamente aumenta nel tempo.

Recenti studi hanno dimostrato che i sistemi adesivi si comportano come membrane semipermeabili^{12,13}. Tale permeabilità è potenzialmente in grado di ostacolare l'adesione di sistemi cemento-resinosi, in quanto la presenza di fluido può facilmente interpersi tra il cemento idrofobico e l'adesivo stesso creando una interfaccia con

ridotta capacità di ritenzione adesiva¹⁴. I cementi resinosi applicati su un substrato che permette passaggio di fluido possono essere soggetti a fenomeni di emulsione durante la polimerizzazione con la formazione di globuli di resina determinati dalla presenza di acqua¹⁵. I cementi auto-polimerizzanti con tempi di indurimento lunghi sono sicuramente più sensibili a tale problematica. La formazione di aree dove non si ottiene una adesione è potenzialmente in grado di creare microaree colonizzabili dai batteri che si vengono a trovare in comunicazione con la sottostante dentina non protetta dal permeabile strato di adesivo che la ricopre. Tale situazione determinerebbe una comunicazione diretta tra ambiente orale e dentina attraverso la resina del sistema adesivo.

La permeabilità dei sistemi adesivi consente l'assorbimento di acqua da parte delle resine¹⁶ e, inoltre, facilita la diffusione di enzimi idrolitici. Tutto questo è potenzialmente in grado di determinare un progressivo degrado del sistema adesivo ben noto in letteratura¹⁷⁻²². La permeabilità dei sistemi adesivi è correlabile alla presenza di sensibilità postoperatoria in accordo con le teorie idrodinamiche. Il sistema *self-etching* ha dimostrato una minore permeabilità immediata e ciò è in accordo con uno studio⁵ che ipotizza una incompleta rimozione degli *smear plug* e dell'idrossiapatite che riveste le fibre collagene conseguenti all'utilizzo del sistema. I *self etching* con azione mordenzante meno aggressiva sembrano in grado di garantire una ridotta permeabilità iniziale che tende comunque ad aumentare progressivamente nel tempo.

Il presente studio fornisce un supporto morfologico che evidenzia in vivo la presenza di un fenomeno ben noto in vitro. Tale metodica non è in grado di fornire una valutazione quantitativa, ma ha il vantaggio di poter effettuare ripetute stime sullo stesso substrato e in condizioni standardizzabili.

L'evoluzione dei nuovi sistemi adesivi dovrà essere volta a ridurre il problema della permeabilità per fornire al clinico sistemi adesivi affidabili e duraturi.

CONCLUSIONI

I risultati del presente studio consentono di affermare che i sistemi adesivi non sono in grado di ripristinare un completo sigillo della dentina esposta. Inoltre la permeabilità del sistema adesivo tende progressivamente ad aumentare nel tempo. Le procedure cliniche adesive, con sistematiche auto-polimerizzanti o duali in assenza di fotopolimerizzazione, sono da considerarsi situazioni ad alto rischio di insuccesso.

Bibliografia

- Baldissara P, Comin G, Martone F, Scotti R. Comparative study of the marginal microleakage of six cements in fixed provisional crowns. *J Prosthet Dent* 1998;80:417-22.
- Pashley EL, Comer RW, Simpson MD, Horner JA, Pashley DH, Caughman WF. Dentin permeability: sealing the dentin in crown preparations. *Oper Dent* 1992;17:13-20.
- Tay FR, Pashley DH. Water treeing: a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent* 2003;16: 6-12.
- Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res* 2002;81:472-6.
- Tay FR, King NM, Chan K-M, Pashley DH. How can nanoleakage occur in self-etching adhesive systems that demineralize and infiltrate simultaneously? *J Adhes Dent* 2002;4:255-69.
- Tay FR, Hashimoto M, Pashley DH, Peters MC, Lai SCN, Yiu CKY. Aging affects two modes of nanoleakage expression in bonded dentin. *J Dent Res* 2003;82:537-41.
- Chersoni S, Suppa P, Lorenzo B, Ferrari M, Tay FR, Pashley DH, Prati C. Water movement in the hybrid after different dentin treatments. *Dent Mater* 2004, in press.
- Itthagarun A, Tay FR. Self-contamination of deep dentin by dentin fluid. *Am J Dent* 2000;13:195-200.
- Bouillaguet S, Duroux B, Ciucchi B, Sano H. Ability of adhesive systems to seal dentin surfaces: An in vitro study. *J Adhes Dent* 2000;2:201-8.
- Escribano N, Del-Nero O, de la Macorra JC. Sealing and dentin bond strength of adhesive systems in selected areas of perfused teeth. *Dent Mater* 2001;17:149-55.
- Pashley DH, Livingston MJ, Greenhill JD. Regional resistance to fluid flow in human dentine, in vitro. *Arch Oral Biol* 1978;23:807-10.
- Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent* 2002 Sep-Nov;30(7-8):371-82.
- Tay FR, Pashley DH, Yiu CK, Sanes AM, Wei SH. Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and chemically-cured or dual-cured composites. Part I. Single-step self-etching adhesive. *J Adhes Dent* 2003;5:27-40.
- Tay FR, Pashley DH, Peters MC. Adhesive permeability affects composite coupling to dentin treated with a self-etch adhesive. *Oper Dent* 2003 Sep-Oct;28(5):610-21.
- Mak YF, Lai SCN, Cheung GSP, Chan AWK, Tay FR, Pashley DH. Microtensile bond testing of resin cements to dentin and an indirect resin composite. *Dent Mater* 2002;18:609-21.
- Burrow MF, Inokoshi S, Tagami J. Water sorption of several bonding resins. *Am J Dent* 1999;12:295-8.
- De Munck Y, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003;82:136-40.
- Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000;79:1385-91.
- Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Tay FR, Kaga M, Kudou Y, et al. Micro-morphological changes in resin-dentin bonds after 1 year of water storage. *J Biomed Mater Res* 2002;63:306-11.
- Hashimoto M, Tay FR, Ohno H, Sano H, Kaga M, Yiu CKY, et al. SEM and TEM analysis on water degradation of human dentinal collagen. *J Biomed Mater Res* 2003;66:287-98.
- Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. Degradation patterns of different adhesives and bonding procedures. *J Biomed Mater Res* 2003;66:324-30.
- Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomater* 2003;24:3795-803.

Capitolo 5

Giovanni Luca Acquaviva^{1,2}
Stefano Chersoni¹
Stavros Oikonomoy¹
Gabriela Piana^{1,2}
Carlo Prati¹

¹Alma Mater Studiorum
Università degli Studi di Bologna
Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche
Direttore: Prof. Carlo Prati
²Dottorato di Ricerca in
Odontoiatria per Disabili
Direttore: Prof. Gabriela Piana

Corrispondenza:
Dott. Giovanni Luca Acquaviva
Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche
Reparto di Endodonzia
Università degli Studi di Bologna
Via San Vitale 59
40125 Bologna
Tel: +39 051278011
Fax: +39 051225208

Degradazione dello strato ibrido e riduzione dell'adesione dentinale dopo immersione in soluzione cariogena

Hybrid layer degradation and bond strength reduction after immersion in cariogenic solution

RIASSUNTO

Obiettivi: lo scopo del presente studio è stato quello di valutare l'influenza dell'ambiente acido sui valori di adesione degli adesivi dentali su dentina umana.

Metodi: è stata valutata la forza di adesione di due moderni sistemi adesivi dentali: *One Up Bond F Plus* (Tokuyama Corp., Tokuyama, Giappone) e *Clearfil SE Bond* (SE Group, Kuraray Medical Inc., Giappone), mediante *micro-tensile bond strength* su 12 molari umani estratti. In particolare è stata valutata l'adesione prima e dopo lo stoccaggio in soluzione cariogena.

Risultati: entrambi i sistemi adesivi hanno mostrato un significativo decremento della forza di adesione dopo lo stoccaggio in soluzione cariogena.

Conclusioni: la soluzione cariogena è responsabile dei fenomeni di degradazione dello strato ibrido che comporta la riduzione dei valori di adesione.

Parole chiave:

Sistemi adesivi, acido lattico, micro-tensile.

ABSTRACT

Objectives: The aim of this study was to evaluate the influence of cariogenic solution on the adhesion bond strength of two modern bonding systems on human dentin.

Methods: two modern bonding systems bond strength was evaluated by Micro-tensile Bond strength technique on 12 extracted human molars. In particular adhesion before and after cariogenic solution storage was evaluated.

Results: a significant decrease in adhesion bond strength in either bonding systems was detected after cariogenic solution storage.

Conclusions: cariogenic solution increases tooth-restoration interface degradation phenomenon.

Key words:

Bonding system, lactic acid, micro-tensile.

INTRODUZIONE

Una elevata forza di adesione e un completo sigillo marginale dell'interfaccia tra la resina composita e la dentina sono requisiti fondamentali per il successo clinico di restauri conservativi (Van Meerbeek et al., 2003; Acquaviva et al., 2004b). Lo strato ibrido marginale rappresenta un fattore essenziale nella durata clinica di un restauro. È stato recentemente ipotizzato come lo strato ibrido si dissolva nel tempo a causa del continuo passaggio di fluidi che avviene attraverso l'adesivo stesso (Hashimoto et al., 2000; Prati et al., 2005). Il fenomeno è particolarmente evidente nei sistemi adesivi *all in one*, fortemente idrofilici (Tay et al., 2002; Prati et al., 2005; Chersoni et al., 2004a, 2005). Un recente lavoro dimostra poi come la permeabilità dello strato

ibrido e la dissoluzione dello stesso aumentino in grande misura dopo conservazione dei campioni in soluzione cariogena (Acquaviva et al., 2004a; Prati et al., 2005).

Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare l'influenza dell'ambiente acido sui valori di adesione degli adesivi dentali su dentina umana.

MATERIALI E METODI

Sono stati utilizzati 12 elementi dentari umani non cariati estratti e conservati per un massimo di 15 giorni in soluzione fisiologica.

Gli elementi sono stati detersi mediante coppette di gomma montate su manipoletto blu.

Gli elementi sono stati divisi in due gruppi (test e controllo). Entrambi i gruppi sono stati a loro volta suddivisi in quattro sottogruppi trattati con diversi sistemi adesivi:

- *One Up Bond F plus* (Tokuyama Corp., Tokuyama, Giappone);
- *Se Bond* (Kuraray Medical Inc., Tokyo, Giappone).

Gli elementi sono stati quindi sezionati nella porzione coronale e radicolare mediante troncatrice (Remet, Italia) sotto abbondante getto di acqua, ottenendo in questo modo un cilindro di dentina di 1 cm circa di spessore (Fig. 1).

Sulla superficie coronale del cilindro è stato creato uno *smear layer* uniforme mediante sfregamento con carta abrasiva a granulometria #180 della durata di 60 secondi.

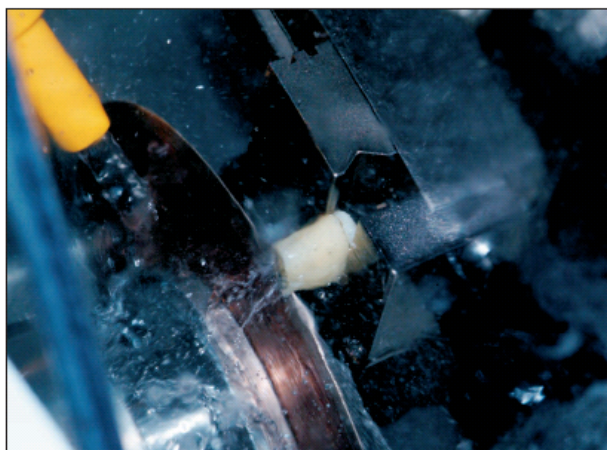


Fig. 1. La figura mostra un momento della sezione di un campione.
The picture shows a sample section.



Fig. 2. La figura mostra gli stick subito prima di essere sottoposti al test di micro-trazione.
The picture shows sticks before micro-tensile test.

È stato quindi applicato l'adesivo secondo le indicazioni delle case produttrici ed è stato eseguito un *build-up* in composito.

Sono infine stati sezionati *stick* (sezioni) delle dimensioni di 1 mm x 1 mm di base (Fig. 2). Gli *stick* del gruppo test sono stati mantenuti immersi in una soluzione di acido lattico a pH 4,4 per 3 ore.

Allo scadere delle 3 ore, gli *stick* sono stati rimossi dalla soluzione e si è proceduto alla loro trazione mediante macchina da trazione (Bisco, Schaumburg, IL, USA) per valutare la forza di adesione.

Gli *stick* del gruppo di controllo sono stati sottoposti dopo la sezione al test di microtrazione senza ulteriori trattamenti.

Alcuni campioni sono stati analizzati al microscopio elettronico a scansione (SEM) secondo la normale metodologia (Prati et al., 2000).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante l'ANOVA test.

RISULTATI

I risultati sono schematizzati nella Tabella 1 e nella Figura 3. I valori di adesione più elevati sono stati raggiunti con il *One Up Bond F Plus* prima della conservazione in ambiente acido. Dopo lo stoccaggio in soluzione cariogena è stato evidenziato un decremento dei livelli di

adesione di entrambi i sistemi adesivi. Questo decremento è stato comunque inferiore per il *Clearfil SE Bond*. Dopo la conservazione in soluzione cariogena, quindi, il valore di adesione più elevato è risultato quello del *Clearfil SE Bond*.

I tipi di frattura durante il test di trazione sono stati per lo più di natura adesiva nei campioni che sono stati testati prima dello stoccaggio in acido.

La valutazione morfologica effettuata sui campioni immediatamente dopo la loro preparazione ha evidenziato, in genere, la presenza di uno strato ibrido omogeneo e parzialmente privo di porosità (Fig. 4). Lo spessore variava da 4 a circa 8 micron (Fig. 5). A forte ingrandimento (Fig. 5) si sono osservate piccole porosità (del diametro di circa 0.2-0.3 micron) con deficit di sostanza a volte interconnesse fra loro, a volte parzialmente oblitrate da detriti prodotti du-

rante la preparazione dei campioni per il SEM. Si sono osservati ovviamente i *resin tag* di lunghezza superiore ai 50 micron (Fig. 6). Alcune zone presentavano un *gap* fra dentina e resina adesiva ed in cui risultava difficile evidenziare la presenza di *hybrid layer*, suggerendo che in tali zone fosse avvenuto il distacco prematuro dei campioni dal substrato dentinale (Fig. 6).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I motivi di una così elevata riduzione della forza di adesione dopo conservazione in soluzione cariogena sono probabilmente da ricercare in una degradazione dello strato ibrido (Acquaviva et

Sistema adesivo	Mezzo di stoccaggio	n sezioni	Valore medio \pm DS
SE Bond	Acqua	25	34,2 \pm 7,93
SE Bond	Acido lattico	27	25,1 \pm 12,01
One Up Bond Plus	Acqua	29	35,2 \pm 17,24
One Up Bond Plus	Acido lattico	28	20,5 \pm 8,71

Table 1 - La tabella mostra i valori di adesione dei due sistemi adesivi testati prima e dopo stoccaggio in soluzione cariogena.

The table shows adhesion values of the tested bonding agents before and after cariogenic solution storage.

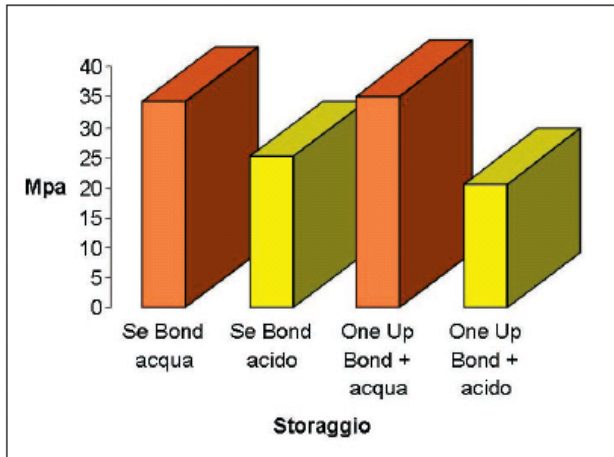


Fig. 3. La figura mostra i risultati del test di microtrazione dei due sistemi adesivi prima e dopo stoccaggio in soluzione cariogena.

The picture shows micro-tensile results of the tested bonding agents before and after cariogenic solution storage.

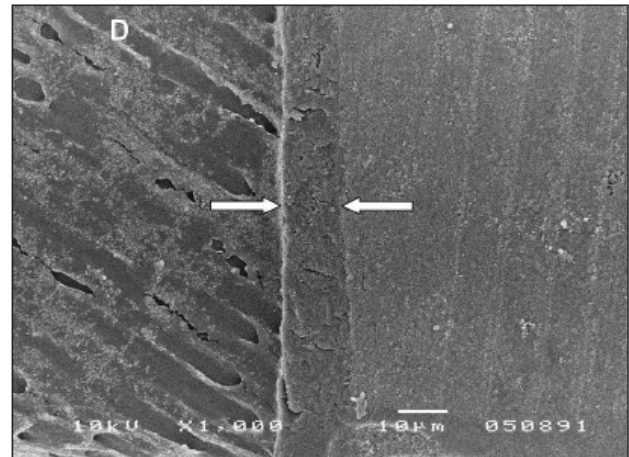


Fig. 4. La figura mostra lo strato ibrido dell'interfaccia dentina-adesivo di uno stick. Lo spessore dello strato ibrido varia da 4 a circa 8 micron. Nella figura lo strato ibrido è evidenziato tra due frecce (x1000).

The picture shows hybrid layer in a stick. The thickness of the hybrid layer is between 4 and 8 micron. The hybrid layer is underlined by the 2 arrows (x1000).

al., 2004a; Prati et al., 2005). Il fenomeno della degradazione del legame adesivo è stato osservato *in vitro* ed *in vivo* (Hashimoto et al., 2000) e solo recentemente è stato considerato come una seria limitazione clinica all'utilizzo dei sistemi adesivi dentali. A conferma di quanto descritto, in un recente studio alcuni sistemi adesivi hanno mostrato una riduzione dei valori di adesione dopo stoccaggio in acqua per un periodo di tempo pari a 4 anni (De Munck et al., 2003).

A questo proposito, un nostro recente studio ha dimostrato la presenza di fluido dentinale in forma di piccole bolle, denominate *droplet*, all'interfaccia dente-otturazione, a testimoniare il passaggio di fluidi a livello dello strato ibrido marginale (Chersoni et al., 2004a,b). Adesivi molto permeabili hanno mostrato un elevato numero di *droplet* sulla loro superficie, mentre adesivi poco permeabili hanno mostrato pochi *droplet* (Acquaviva et al., 2004a; Prati et al., 2005).

Nel presente studio il maggiore decremento del legame adesivo si è verificato con il sistema adesivo di tipo *All in One*. Probabilmente ciò è dovuto alla maggiore permeabilità solitamente presentata da questi sistemi adesivi (Tay et al., 2002; Chersoni et al., 2004c). Tale permeabilità determina un maggior assorbimento di acqua e di soluzione cariogena,

che comporta probabilmente l'innescare di una reazione di degradazione idrolitica del legame e una demineralizzazione delle particelle di apatite inserite e inglobate nello strato ibrido.

Lo studio dimostra che la zona dentina-strato ibrido-resina composita è estremamente vulnerabile all'attacco acido. Molti adesivi pertanto presentano questo problema. Da un punto di vista clinico possiamo ritenere che anche *in vivo* si verifichino alterazioni responsabili di una caduta dei valori di adesione nel tempo. Tale valore, inferiore a quello registrato immediatamente dopo la polimerizzazione, è probabilmente sufficiente a mantenere *in situ* il sistema adesivo-composito.

Alcuni studi (Tay et al., 2003) hanno dimostrato la presenza di *droplet* e vuoti a livello dell'adesivo valutato dopo il test di trazione. Tali porosità sono più numerose nei campioni mantenuti in stoccaggio, suggerendo che l'immersione in acqua comporta un suo assorbimento e una sua localizzazione all'interno della interfaccia. La presenza di piccole porosità nello spessore dello strato ibrido è stata ben documentata dalla nostra analisi al SEM. In effetti a forte ingrandimento (x5.000) si è evidenziata la presenza di deficit di sostanza, tipo piccoli pori e sottili fratture ramificate nello

spessore dello strato ibrido. Tali porosità possono ben giustificare la presenza di connessioni fra dentina e strato ibrido-composito e quindi il passaggio di acqua (o liquidi) in grado di deteriorare il legame. Passaggio e assorbimento di acqua sono possibili perché si verificano alcune condizioni, ed in particolare:

- presenza di microcanali collegati e microporosità già presenti al momento della fase di polimerizzazione;
 - presenza di resina idrofila che richiama acqua all'interno dello strato ibrido e della resina stessa;
 - insufficiente polimerizzazione che comporta la presenza di monomeri idrofilici attivi in alta concentrazione.
- Molto importante è, al riguardo, il fenomeno del *nanoleakage* descritto da Sano nel 1995 e da Tay e Pashley nel 2003 mediante la visualizzazione dei cosiddetti *water tree*. Altri metodi sono stati poi utilizzati per dimostrare caratteristiche simili riconducibili allo stesso fenomeno (Suppa et al., 2005).

La soluzione cariogena probabilmente crea un aumento della demineralizzazione della dentina e quindi un aumento della porosità dei tessuti limitrofi al margine (Savarino et al., 2002, 2004; Prati et al., 2005). Tali porosità possono mettersi in comunicazione con le porosità all'interno dello strato ibrido.

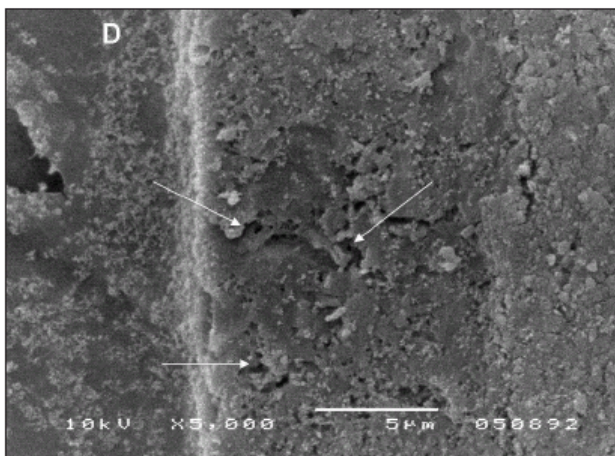


Fig. 5. Nella figura si possono osservare piccole porosità (del diametro di circa 0.2-0.3 micron) e deficit di sostanza a volte interconnesse fra loro e a volte parzialmente oblitrate da detriti prodotti durante la preparazione dei campioni per il SEM. Le frecce evidenziano alcune porosità (x5000).

Different porosity zones and voids (0.2-0.3 micron) can be observed in the hybrid layer. Some porosity zones are underlined by arrows (x5000).

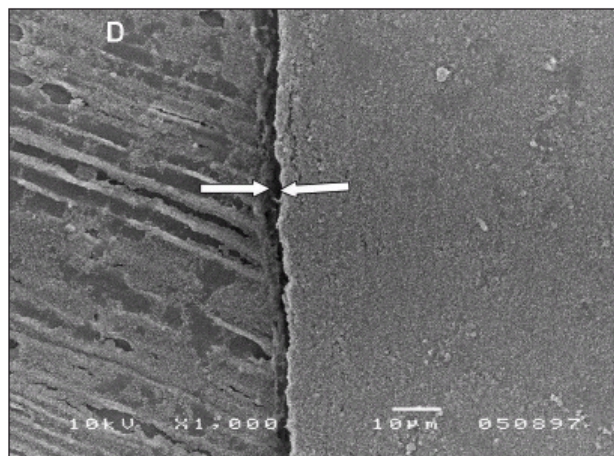


Fig. 6. Nella figura è ben visibile un gap fra dentina e resina adesiva evidenziato dalle frecce. In tale area risulta difficile evidenziare la presenza di hybrid layer (x1000).

A gap can be observed between dentin and adhesive resin. The gap is underlined by arrows (x1000).

In conclusione lo studio dimostra che la soluzione cariogena amplifica i fenomeni di degradazione della interfaccia dente-restauro.

L'importanza clinica di tali risultati è ancora da valutare pienamente, ma è evidente che pazienti con scarso potere tampone della saliva, deficit di saliva-

zione ed elevata carica batterica sono più a rischio di degradazione dello strato ibrido marginale.

BIBLIOGRAFIA

1. Acquaviva GL, Piana G, Nucci C, Chersoni S, Pizzi S, Prati C. Permeabilità e osmosi dello strato ibrido marginale nei restauri in composito. *It J Oper Dent* 2004a; 2:33.
2. Acquaviva GL, Breschi L, Di Lenarda R, Piana G, Chersoni S, Prati C. Adesione e adesivi fra ricerca e clinica: stato dell'arte. *Dentista Moderno* 2004b; 7:25-56.
3. Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli E, Yiu C, Huang C, Prati C, Breschi L, Ferrari M, Pashley DH, Tay FR. *In vivo* and *in vitro* permeability of one-step self-etch adhesives. *J Dent Res* 2004a; 83:459-64.
4. Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Ferrari M, Tay FR, Pashley DH, Prati C. Water movement in the hybrid layer after different dentin treatments. *Dent Mater* 2004b; 20:796-803.
5. Chersoni S, Acquaviva GL, Prati C, Ferrari M, Grandini S, Pashley DH, Tay FR. *In vivo* fluid movement through dentin adhesives in endodontically-treated teeth. *J Dent Res* 2005; 84:223-7.
6. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, Lambrechts P, Vanherle G. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003; 82:136-40.
7. Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. *In vivo* degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res* 2000; 79:1385-91.
8. Prati C, Pashley DH, Chersoni S, Mongiorgi R. Marginal hybrid layer in Class V restorations. *Oper Dent* 2000; 25:228-33.
9. Prati C, Chersoni S, Acquaviva GL, Breschi L, Suppa P, Tay FR, Pashley DH. Permeability of marginal hybrid layers in composite restorations. *Clin Oral Investig* 2005; 9:1-7.
10. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Horner JA, Matthews WG, Pashley DH. Nanoleakage: leakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995; 20:18-25.
11. Savarino L, Saponara Teutonico A, Tarabusi C, Breschi L, Prati C. Enamel microhardness after *in vitro* demineralization and role of different restorative materials. *J Biomater Sci Polym Ed* 2002; 13:349-57.
12. Savarino L, Breschi L, Tedaldi M, Ciapetti G, Tarabusi C, Greco M, Giunti A, Prati C. Ability of restorative and fluoride releasing materials to prevent marginal dentine demineralization. *Biomaterials* 2004; 25:1011-7.
13. Suppa P, Breschi L, Ruggeri A, Mazzotti G, Prati C, Chersoni S, Di Lenarda R, Pashley DH, Tay FR. Nanoleakage within the hybrid layer: A correlative FEISEM/TEM investigation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005 *In press*.
14. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun. A Single-Step adhesives are permeable membranes. *J Adhes Dent* 2002; 30:472-476.
15. Tay FR, Pashley DH. Water treeing: a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent* 2003; 16:6-12.
16. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003; 28:215-235.



ELSEVIER

Fluoride release and absorption at different pH from glass-ionomer cements

M.G. Gandolfi^a, S. Chersoni^b, G.L. Acquaviva^b, G. Piana^b,
C. Prati^{b,*}, R. Mongiorgi^a

^aCenter of Biomineralogy, Crystallography and Biomaterials, University of Bologna, Bologna Italy

^bDepartment of Dental Sciences, University of Bologna, Bologna Italy

Received 14 December 2004; accepted 7 April 2005

KEYWORDS

Dental material;
Glass-ionomer
cement;
Fluoride

Summary Objective. The aim of this study was to evaluate the fluoride release (release-tests) from two glass-ionomer cements (GIC), before and after NaF solution treatment (fluoride treatment) in different pH environments.

Materials and methods. After 21 days, every second sample was submitted to fluoride treatment to simulate a fluoride recharge. After fluoride treatment every second sample was submitted to a further three days of long release-tests. Sample surfaces were analyzed by SEM before and after the release-tests in all pH solutions studied.

Results. The present study showed that GICs released fluoride ions for the duration of the examination period. For both materials the amount of F released at low pH was considerably greater than at higher pH. The massive superficial breaking up observed by SEM probably promoted the releasing processes. Recharge is possible at different pH levels using NaF solution.

Conclusions. Fluoride release may depend on GICs surface degradation caused by pH in the solution. The use of this kind of material may be an important issue in patients with low pH saliva and with a high risks caries.

© 2005 Academy of Dental Materials. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Glass polyalkenoate (ionomer) cements are water-based restorative material consisting of an ion-leachable glass powder and a poly(alkenoic

acid) which react to form an homogeneous cement mass [1]. The original cement was developed by Wilson and Kent [2] and has undergone continuous development, improvement, and diversification.

Glass ionomer cements (GICs) are widely used in dentistry because of a variety of suitable properties. Chemical diffusion-based adhesion to enamel and dentin [3] and fluoride release [4] are some of their important properties. The exhausted glass ionomer cements can be

* Corresponding author. Address: School of Dentistry, Department of Endodontics, Alma Mater Studiorum, University of Bologna, Via San Vitale 59, 40125 Bologna, Italy. Tel.: +39 051 278011; fax: +39 051 225208.

E-mail address: prati@alma.unibo.it (C. Prati).

recharged with a fluoride application potentially to maintain cariostatic capability [5]. In vitro caries inhibition was previously observed [6,7] and a reduced number of cases of primary caries has been described in clinical practice [8] using GICs as restorative materials. An inhibiting effect on the demineralization process in vitro has been described [9].

Despite these properties, disadvantages such as early water sensitivity, poor strength and reduced occlusal wear resistance have limited the use of conventional GICs in clinical application [10-12]. Resin-based glass-ionomer restorative materials (such as compomers) were used to contrast GICs disadvantages. A recent investigation reported that these materials are able to induce dentin remineralization and to prevent marginal demineralization when restored teeth are stored in an artificial cariogenic solution [13-14]. Great differences in fluoride release between various materials in respect of

the levels of fluoride released have been described [15,16]. Hence a study demonstrated that fluoride release decreased when artificial and human saliva were used, rather than deionised water [10]. Other GICs showed a reduced fluoride releasing despite the claims of their manufacturers [17-18].

Finally, a previous investigation demonstrated that after F release, all GICs are able to increase their ability to release fluoride if immersed in a fluoridated a solution [5]. In other words, they are able to be recharged.

The aim of this study was to evaluate the fluoride release from two different GICs immersed for pre-established times, into solutions at pH 2, 5 and 7. A further aim of the study was to evaluate the effectiveness of an additional NaF treatment (fluoride treatment) on fluoride release. Moreover additional morphological information were obtained by SEM observation of GICs surface before and after treatments.

Table 1a-b Tables report the means and the standard deviations of released F⁻ data (expressed as µg/g/cm²) from GICs Fuji IX (1a) and Fuji VII (1b), before and after fluoride treatment (FT), effected at day 21, immersed in storage solutions of different pH.

(a) GIC FUJI IX

Storage pH		day 1	day 4	day 7	day 14	Day 21	F ⁻				
							uptake	day 1 after FT	day 2 after FT	day 3 after FT	
pH 2	mean	582,18	333,89	118,99	309,31	190,48	4935,58	270,51	252,98	231,25	
	SD	94,10	44,00	24,23	36,20	35,11	301,28	36,60	34,87	36,34	
pH 5	mean	165,45	97,10	31,87	101,80	38,37	4419,97	18,05	12,83	9,71	
	SD	37,4007	12,33	6,85	12,23	6,15	515,84	6,01	1,19	1,07	
pH 7	mean	70,18	47,75	33,86	56,45	38,26	3364,91	32,07	17,84	13,01	
	SD	26,49	18,96	21,27	7,22	3,93	371,44	3,98	1,53	2,12	
pH2 vs pH5		p	0,0001	0,0000	0,0003	0,0000	0,0000	0,0168	0,0000	0,0000	0,0000
pH2 vs pH7		p	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000
pH 5 vs pH7		p	0,0001	0,0001	0,3775	0,0000	0,3352	0,0031	0,0020	0,0000	0,0090

(b) GIC FUJI VII

Storage pH		Day 1	day 4	day 7	day 14	day 21	F ⁻				
							uptake	day 1 after FT	day 2 after FT	day 3 after FT	
pH 2	mean	850,58	425,97	571,31	280,23	184,99	3199,14	373,58	264,75	230,35	
	SD	42,02	46,55	72,16	30,89	30,26	255,84	30,01	24,01	21,04	
pH 5	mean	358,02	214,63	166,90	110,17	74,33	2079,39	23,58	18,81	15,20	
	SD	23,43	31,31	27,67	22,98	10,82	557,57	2,64	2,15	1,95	
pH 7	mean	249,01	189,10	144,03	77,28	13,76	1032,83	21,59	20,79	15,01	
	SD	29,38	14,58	17,35	16,12	4,95	402,99	3,71	3,47	1,85	
pH 2 vs pH5		p	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0002	0,0009	0,0000	0,0000	0,0000
pH 2 vs pH7		p	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
pH 5 vs pH7		p	0,0002	0,0510	0,0343	0,0060	0,0001	0,0059	0,1150	0,3761	0,1811

Student-t test results are also reported (significance when P<0.05). It is an analysis of the release difference, for every material, between all pH's tested and the amount of absorbed fluoride (F⁻ uptake) from materials during FT.

Materials and method

GICs samples preparation

In the present study two GICs were analyzed: GC Fuji VII Capsule and GC Fuji IX GP Fast (GC Dental Industrial Corp. Tokyo, Japan).

The glass powder mixture of the two materials tested was prepared in accordance with manufacturer's directions. Immediately after mixing, cements were inserted inside acrylic molds. Each sample surface was covered by a transparent matrix. GIC Fuji IX GP samples, chemically activated, were maintained inside the mold, covered by the matrix, for ten minutes. GIC Fuji VII Capsules were photo-activated for 40 seconds with a plasma light source (New Light VL-II GC). Finally both GICs were stored at 37 °C for 30 min.

Each sample surface was measured with a precision caliper and resulted in 197,18/0,02 mm².

In accordance with Horsted-Bindslev [15] samples surfaces were evaluated in order to obtain samples with standard dimensions, suitable for fluoride release determination. The mean surface was approximately 200 × 2 = 400 mm². Total weight of all sample pair was then evaluated.

Ion-selective electrode method

To evaluate F release from GICs an ion-selective electrode for fluoride ions (Orion, mod. 940911-Orion Research Inc., Cambridge, MA, USA) was used.

Experimental design

A total of 36 samples were prepared and then equally divided into three groups for the different pH tests as follow: 12 samples for pH 2 tests; 12 samples for pH 5 tests; 12 samples for pH 7 tests. Two samples from each group were used for every release-test and six release-tests were made for each pH tested. Storage solutions at pH 2 were made of a 0.1 M lactic acid solution acidified with HCl; storage solutions at pH 5 were formed by double-deionised water while storage means at pH 7 comprised of double-deionised water basified with diluted NaOH.

Release-test: each sample pair was immersed in 50 ml of storage solution at a specific pH and incubated at 37 °C in a thermo-stated chamber (WTB Binder mod. ED 53) for 3 weeks.

The storage solution was changed on days 1, 4, 7, 14 and 21, and F concentration was analyzed by

means of an ion-selective electrode. Five ml of TISAB III buffer was added to 50 ml of storage solution in order to analyze the F concentration (expressed as ppm).

After 21 days of contact with the different pH solutions, each sample was submitted to fluoride treatment (FT) as follows: the samples were immersed for 3 min in a NaF solution (containing 1100 ppm of F) to simulate the fluoride ion recharge that GICs may receive from any product containing F, useful for oral hygiene.

The F absorbing ability of the two materials tested (F uptake), after 21 days of contact with the solution being tested, was obtained by measuring the F concentration in NaF solution before and after fluoride treatment.

After fluoride treatment, the samples were then submitted to a further three days long fluoride release-tests: the storage solutions were changed

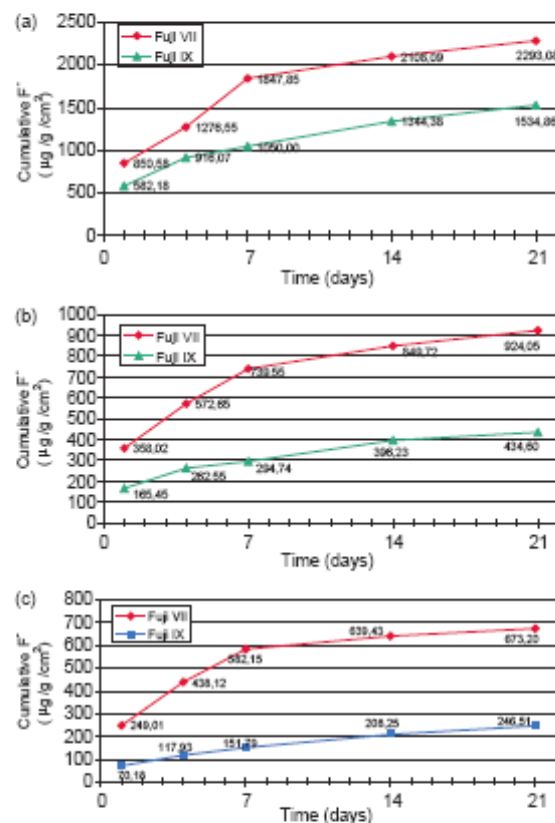


Figure 1 (a) Chart showing average cumulative release ($n=6$), in $\mu\text{g/g/cm}^2$, of F^- from Fuji VII and Fuji IX GICs, stored in a pH 2 solution. (b) Chart showing average cumulative release ($n=6$), in $\mu\text{g/g/cm}^2$, of F^- from Fuji VII and Fuji IX GICs, stored in a pH 5 solution. (c) Chart showing average cumulative release ($n=6$), in $\mu\text{g/g/cm}^2$, of F^- from Fuji VII and Fuji IX GICs, stored in a pH 7 solution.

daily and the amount of fluoride released was measured. After release-tests, the samples were prepared for SEM observation in order to evaluate the surface morphology after 24 days in different pH solutions.

Data normalization

F release values were normalized in relationship to total surface exchange weight and storage their (days) in order to obtain a release rate profile.

Data normalization to obtain the cumulative release of fluoride (cumulative F release) (Table 1 and Figures 1-7) was obtained by the equation:

$$V_n = \text{ppm} \times 50 \text{ ml} / \text{total surface} / \text{total weight}$$

Where V_n indicates the normalized value, ppm are expressed in $\mu\text{g}/\text{ml}$, 50 ml is the storage solution volume, total surface correspond to

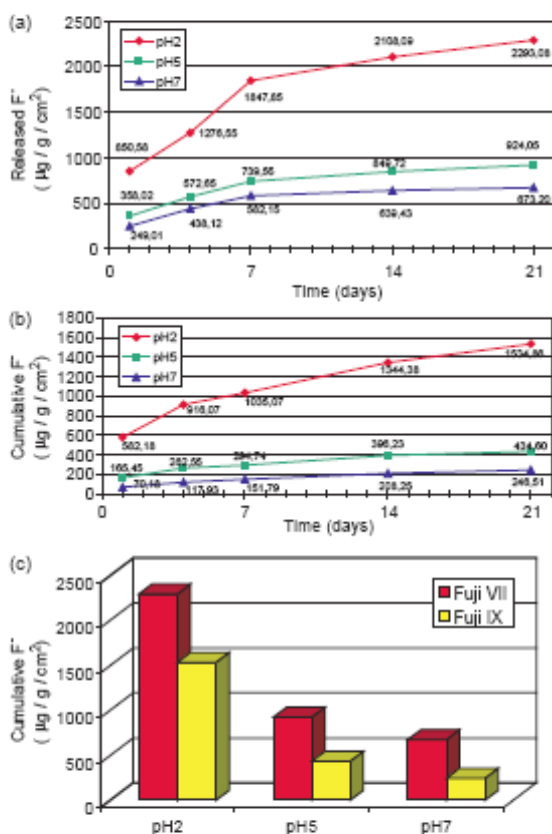


Figure 2 (a) Chart showing average cumulative release of F⁻ from Fuji VII stored in different pH solutions. (b) Chart showing average cumulative F⁻ release from Fuji IX stored in different pH solution. (c) Chart showing cumulative F⁻ release from Fuji VII e Fuji IX after storage at different pH for 21 days.

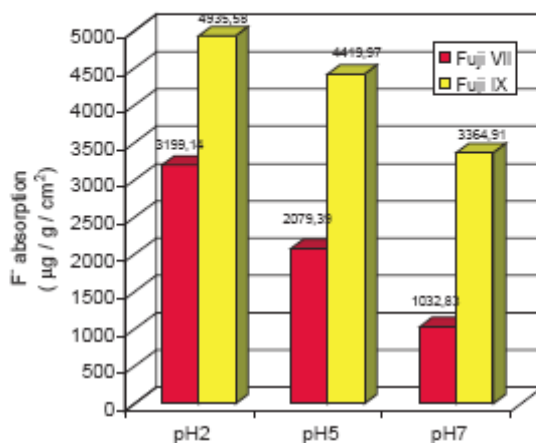


Figure 3 Chart showing F⁻ absorption from Fuji VII e Fuji IX GICs after fluoride treatment.

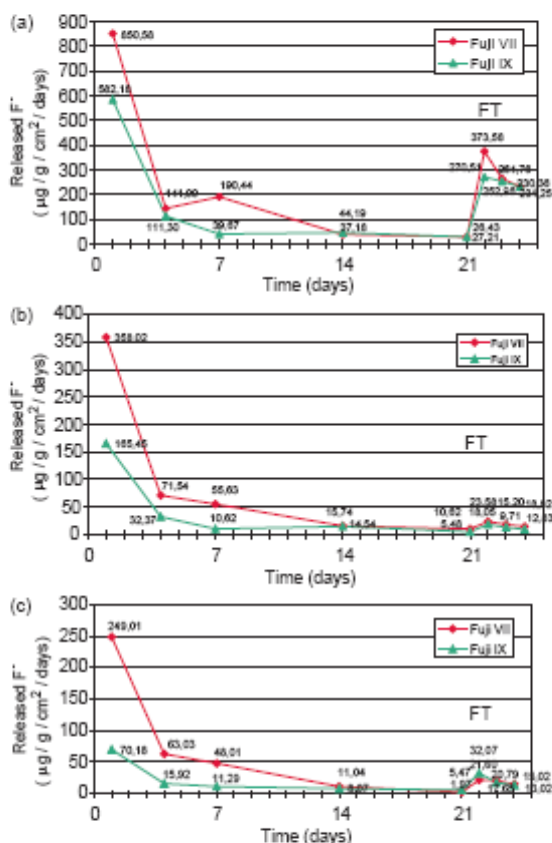


Figure 4 (a) Chart showing F⁻ release rate from Fuji VII e Fuji IX GICs, before and after fluoride treatment (FT) stored in a pH 2 solution. (b) F⁻ release rate from Fuji VII and Fuji IX GICs, before and after fluoride treatment (FT) stored in a pH 5 solution. (c) F⁻ release rate from Fuji VII and Fuji IX GICs, before and after fluoride treatment (FT) stored in a pH 7 solution.

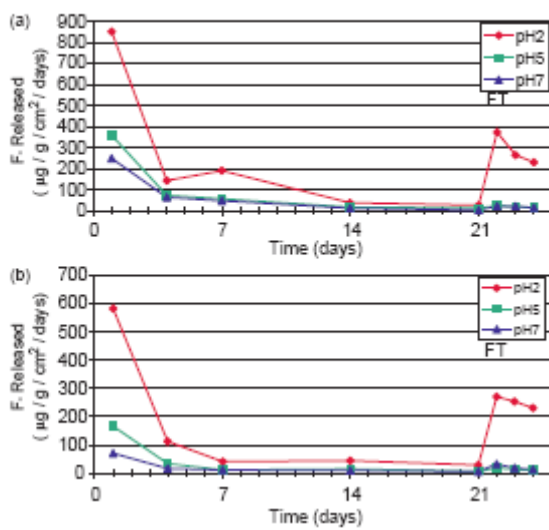


Figure 5 (a) F⁻ release rate from Fuji VII, before and after fluoride treatment (FT), stored in solutions of different pH. (b) F⁻ release rate from Fuji IX, before and after fluoride treatment (FT), stored in solutions of different pH.

394,36 mm²=3,94 cm² and total weight is the weight sum of the sample points.

Data normalization, carried out to obtain the rate of daily release of fluoride (daily F release) (Table 2 and Figures 8-9) was made, for every sample, by dividing the Vn value for the number of days of immersion maintained in the same solution, according to the equation reported in Table 3.

Results

Release test data resulted from the GICs studied are shown in Figures 1a-5b.

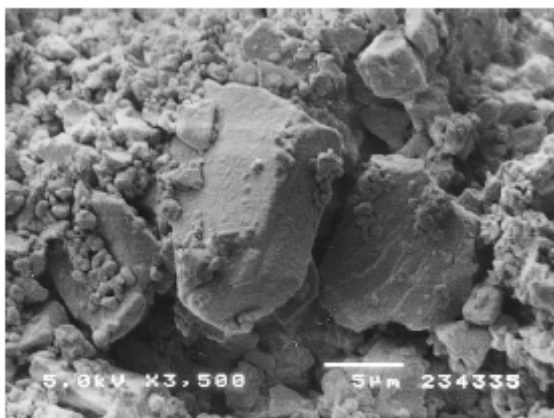


Figure 6 Fuji VII sample stored 24 days in a pH 2 solution. Surface destruction is easily detectable (×3500)

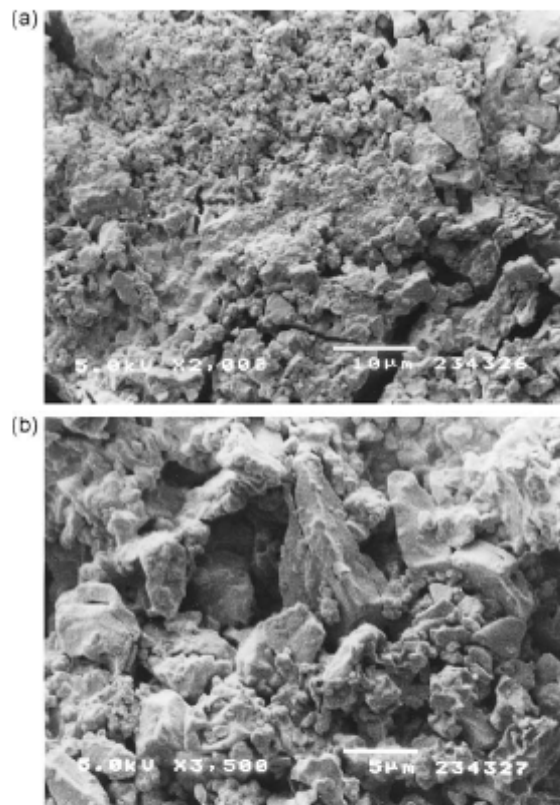


Figure 7 (a) Fuji IX sample stored 24 days in a pH 2 solution. Surface destruction is easily detectable (×2000). (b) Fuji IX sample stored 24 days in a pH 2 solution. Magnification shows cement microgranules (×3500).

A morphological analysis of GIC surface after treatment was possible by SEM investigation. Morphological differences can be observed, for both materials, in the samples stored at pH 5 or pH 7 and samples stored at pH 2. Material surface destruction was evident in the samples stored at pH 2 (Figures 6, 7a and 7b). Glass particles can also be observed in these samples. No morphological differences can be observed in the samples stored at pH 5 and pH 7 (as shown in Figure 8a and b for Fuji VII and in Figure 9a and b for Fuji IX).

In Figure 1a-c the highest cumulative release of F from Fuji VII, at all pH's tested, can be observed. This release difference decreases with the increase in pH. There is a curve divergence at all pH levels tested until the seventh day, when after this date curves are almost parallel.

Figure 2a-b show the cumulative release of Fat each pH tested. A wider release may be observed at pH 2 for both GICs.

In Figure 2c the cumulative release of F histogram after 21 days immersion from both GICs at all pH levels tested, is shown.

Table 2a-c Tables report the means and the standard deviations of released F^- data (expressed as $\mu\text{g}/\text{g}/\text{cm}^2$) from GICs, before and after fluoride treatment (FT), effected at day 21, stored at pH 2 (Table 2a), pH 5 (Table 2b) and pH 7 (Table 2c).

(a) *Storage at pH 2*

Fuji VII		day 1	day 4	day 7	day 14	day 21	F-uptake	day 1 after FT	day 2 after FT	day 3 after FT
		mean	850,58	425,97	571,31	260,23	184,98	3199,14	373,58	264,75
	SD	42,02	48,55	72,18	30,69	30,26	255,84	30,01	24,01	21,04
Fuji IX		day 1	day 4	day 7	day 14	day 21	F-uptake	day 1 after FT	day 2 after FT	day 3 after FT
		mean	582,18	333,89	118,99	309,31	190,48	4935,58	270,51	252,96
	SD	94,10	44,00	24,23	36,20	35,11	301,28	36,60	34,67	36,34
Fuji VII vs Fuji IX		p	0,0003	0,0003	0,0000	0,0342	0,4108	0,0000	0,0305	0,0838

(b) *Storage at pH 5*

Fuji VII		day 1	day 4	day 7	day 14	day 21	F-uptake	day 1 after FT	day 2 after FT	day 3 after FT
		mean	358,01	214,63	168,90	110,17	74,33	2079,39	23,58	18,81
	SD	23,43	31,31	27,67	22,98	10,82	557,57	2,64	2,158	1,95
Fuji IX		day 1	day 4	day 7	day 14	day 21	F-uptake	day 1 after FT	day 2 after FT	day 3 after FT
		mean	165,45	97,10	31,87	101,80	38,37	4419,97	18,05	12,83
	SD	37,40	12,33	6,85	12,24	6,16	515,85	6,01	1,20	1,08
Fuji VII vs Fuji IX		p	0,0000	0,0004	0,0000	0,1937	0,0000	0,3604	0,0003	0,0004

(c) *Storage at pH 7*

Fuji VII		day 1	day 4	day 7	day 14	day 21	F-uptake	day 1 after FT	day 2 after FT	day 3 after FT
		mean	249,01	189,10	144,03	77,28	13,76	1032,83	21,59	20,79
	SD	29,38	14,68	17,35	16,12	4,95	402,99	3,71	3,47	1,85
Fuji IX		day 1	day 4	day 7	day 14	day 21	F-uptake	day 1 after FT	day 2 after FT	day 3 after FT
		mean	70,18	47,75	33,88	56,48	38,26	3364,91	32,07	17,65
	SD	26,50	18,97	21,27	7,22	3,93	371,45	3,98	1,53	2,13
Fuji VII vs Fuji IX		p	0,0002	0,0000	0,0000	0,0025	0,0002	0,0090	0,1163	0,1617

Student-t test results are also reported. It is an analysis of the release difference between Fuji VII vs Fuji IX at every tested pH (significance when $P < 0.05$) and the amount of fluoride absorbed (F^- uptake) from each materials during FT.

Figure 3 shows the absorption of F from GICs after fluoride treatment. It is evident that Fuji IX has greater tendency to absorb F. The absorption ability decreases with the increase in pH values storage for both GICs, but particularly for Fuji VII.

The curves of Figure 4a-c show the rate of F releases daily for the GICs kept in the different pH solutions, before and after fluoride treatment. These values were calculated approximately, by dividing the normalized values obtained on a specific day, for the number of days spent in the same storage solution. A greater F release was observed for Fuji VII at all pH values. F release decreased with time, in particular for Fuji VII. After 14 days of storage there was no difference between the two GICs. For both GICs the F release in the first day's immersion is greater than in the following days storage.

After fluoride treatment, a wide difference between the two materials resulted, only at pH 2, in particular on the first storage day. No release differences were observed at pH 5 and 7.

Figure 5a-b represent the F release rate from the two materials at different pH's, before and after fluoride treatment. For both materials a greater release was observed in the first period of the study (until the fourth day of storage) at all pH levels considered. The greatest release at pH 2 is also evident in the first period. The release difference between storage at pH 2 and the other pH's tested tends to decrease with time.

Even after fluoride treatment the greater release is at pH 2 and in particular on the first day of storage.

A greater F absorption for Fuji VII may be observed.

At pH 5 and 7 there is no significant F absorption following fluoride treatment, and consequently there is no relevant F release.

Table 1 shows the difference in F released from the GICs studied caused by different storage means. A significant release and absorption difference between the GICs tested was observed.

The difference in F release from Fuji IX and Fuji VII (Table 2) in the different pH solutions, showed

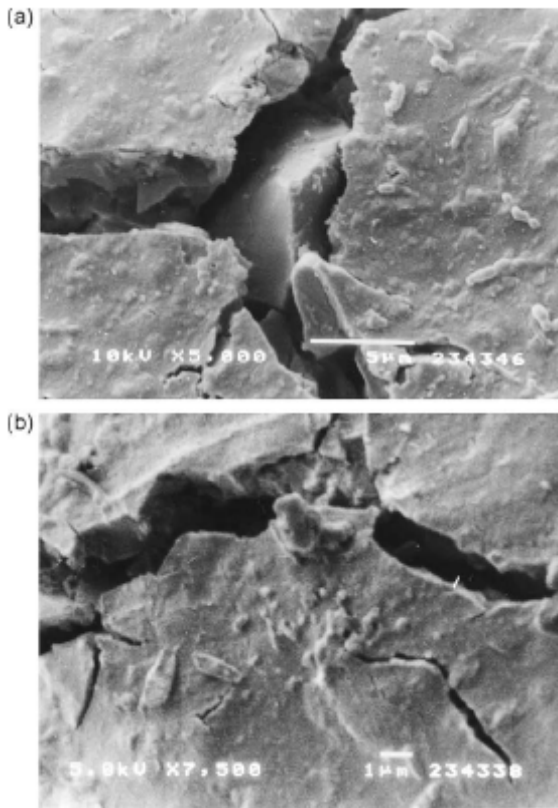


Figure 8 (a) Fuji VII sample stored 24 days in a pH 7 solution. Cement granules are visible ($\times 5000$). (b) Fuji VII sample stored 24 days in a pH 5 solution ($\times 7500$).

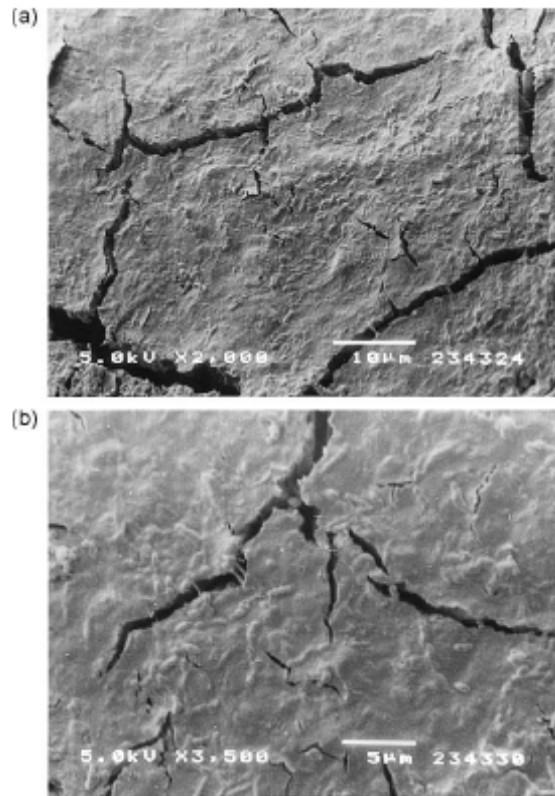


Figure 9 (a) Fuji IX sample stored 24 days in a pH 7 solution ($\times 2000$). (b) Fuji IX sample stored 24 days in a pH 5 solution ($\times 3500$).

statistically significant results at any analysis time. Also the absorption difference following fluoride treatment showed statistically significant results.

Discussion

Kuhn and Wilson in 1985 [19] indicated the existence of three mechanisms concerning F release from GICs: superficial rinse, diffusion through pores and micro-fractures, mass diffusion.

Grisp et al. [20] suggested that fluoride is released from GICs as F, Al F₃ or as fluorophosphate compounds, principally deriving from glass particles that had no reaction at mixture time.

Other chemical species released from GICs in a relevant quantity are silicates and sodium ions.

The present study showed that GICs continue to release F under different pH conditions for the rohole of the period considered (24 days).

As previously described, the greater release is observed on the first day of storage. After that time

a progressive and gradual decrease in release rate occurs until the seventh storage day. After that period the release becomes extremely low but constant with time.

The high level of F release on the first day may be caused by the initial superficial rinsing effect (independent of time), while the constant F release during the following days occurs because of fluoride ability to diffuse through cement pores and fractures; mass diffusion requires more time than considered and consequently occurs with a longer

Table 3 Table shows equation used for data normalization.

Tr 1° day = Vn/1
Tr 4° day = Vn/3
Tr 7° day = Vn/3
Tr 14° day = Vn/7
Tr 21° day = Vn/7
Tr 1° day after TF = Vn/1
Tr 2° day after TF = Vn/1
Tr 3° day after TF = Vn/1

cement contact with the storage mean [19]. In the present study the incidence of mass diffusion on total release was not evaluated.

In general it may be supposed that there is a direct relationship between the fluoride present in the cement and the amount of fluoride released [5,7,21].

The different chemical and physical characteristics of the two GICs studied may be responsible for the differences observed in F release. In fact in every considered pH condition, Fuji VII released a greater amount of F than Fuji IX. Both materials released a greater amount of F at pH 2 than at pH 5 or pH 7. The reason is that both materials are affected by the acidic environment and are greatly damaged by acid solutions, as reported by several studies [9,22]. It is possible to suppose that GICs are not very resistant to external agents [4,11] and at pH 2 they underwent to a massive destruction, prompting the F release process. In fact the interactions of these materials with acid solutions are complex, involving water uptake, neutralization and dissolution [9].

It was even observed that Fuji VII in the pH 2 solution underwent a very important destruction with the subsequent release of an unusually high amount of F (as shown in Figure 6).

The importance of the knowledge of F release in an acid environment has increased in the last years in relation to tooth-restoration interface studies development. In fact this interface may have a high concentration in acidogen bacteria. This situation may turn to an acid micro-environment and may modify the cement's properties [10,23].

In the present study important differences between the two materials concerning F release were not indicated at pH 5 and pH 7. Also SEM analysis did not show evidence of differences in surface morphology. Only the presence of more fractures when stored in solution with pH 5 was noticed. It is evident that pH may increase the risk for fracture and may reduce mechanical properties.

Evidence between in vivo and in vitro studies confirm that a continuous fluoride contact at low concentrations promote a quicker remineralization processes [7,24].

Dijkman showed that a monthly cumulative F release consisting of 200-300 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ is sufficient to completely inhibit enamel demineralization [25]. Both materials analyzed in this current study released a greater amount of F than that indicated by Dijkman, but it must be considered that in the present study the release-tests lasted 21 days.

In the second part of the study, the ability of fluoride treatment, through sample immersion

(3 min) into NaF solution containing 1100 ppm F was tested, to determine the F absorption ability (F Uptake) of every material under the different conditions. Even if Fuji IX showed a lower tendency to F release compared to Fuji VII, Fuji IX presented a greater ability to recharge itself through contact with the fluoride solution.

In the release-tests after fluoride treatment, both materials showed the same release trend as previously described.

The different characteristics of two cements determine the higher reactivity to F of Fuji IX than Fuji VII.

Conclusion

In conclusion, from SEM images it is evident that an acid environment is related to the degradation of GICs according to the results of a recent study [26]. It is also clear that fluoride release is related to GIC degradation. We also know from the literature that cariogenic bacteria provide a low pH biofilm [10,21]. Probably the glass-ionomer cements, such as the materials tested, should only be used as a provisional restorative material if used in patients having saliva of low pH and who present a high caries risk. In fact the possibility of recharging a GICs fluoride content may be an interesting property for use in patients seriously affected by xerostomia and high DMFT.

References

- [1] McLean JW, Nicholson JW, Wilson AD. Proposed nomenclature for glass-ionomer dental cements and related materials. *Quintessence Int* 1994;25:587-9.
- [2] Wilson AD, Kent BE. The glass-ionomer cement. A new translucent dental filling material. *J Appl Chem Biotechnol* 1971;21:3-13.
- [3] Hosoya Y, Garcia-Godoy F. Bonding mechanism of Ketac-molar apicap and Fuji IX GP to enamel and dentin. *Am J Dent* 1998;11:235-9.
- [4] Mount G. Glass-ionomer cements: past, present and future. *Oper Dent* 1994;19:82-90.
- [5] Forsten L. Fluoride release and reuptake by glass ionomers. *Scand J Dent Res* 1991;99:241-5.
- [6] Smales RJ, Gao W. In vitro caries inhibition at the enamel margins of glass ionomer restoratives developed for the ART approach. *J Dent* 2000;28:249-56.
- [7] Francci C, Deaton TG, Arnold RR, Swift EJ, Perdigao J, Bawden JW, et al. Fluoride release from restorative materials and its effects on dentin demineralization. *J Dent Res* 1999;78:1647-54.
- [8] Tyas MJ. Cariostatic effect of glass ionomer cement: a five-year clinical study. *Aus Dent J* 1991;36:236-9.

- [9] Kambhu PP, Ettinger RL, Wefel JS. An in vitro evaluation of artificial caries-like lesions on restored overdenture abutments. *J Dent Res* 1988;67:582-4.
- [10] Okada K, Tosaki S, Hirota K, Hume WR. Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva. *Dent Mater* 2001;17:34-9.
- [11] Towler MR, Bushby AJ, Billington RW, Hill RG. A preliminary comparison of the mechanical properties of chemically cured and ultrasonically cured glass ionomer cements using nano-indentation techniques. *Biomaterials* 2001;22:1401-6.
- [12] Wilson AD, Mc Lean JW. In: *Erosion and longevity in the glass ionomer cement*. London UK: QuintessenceInt; 1998 p. 107-111.
- [13] Savarino L, Breschi L, Tedaldi M, Ciapetti G, Tarabusi C, Greco M, et al. Ability of restorative and fluoride releasing materials to prevent marginal dentine demineralization. *Biomaterials* 2004;25:1011-7.
- [14] Nicholson JW, Millar BJ, Czarnecka B, Limanowska-Shaw H. Storage of polyacid-modified resin composites ('compomers') in lactic acid solution. *Dent Mater* 1999;15:413-6.
- [15] Horsted-Bindslev P. Fluoride release from alternative restorative materials. *J Dent* 1994;22:17-20.
- [16] Savarino L, Cervellati M, Stea S, Cavedagna D, Donati ME, Pizzoferrato A, et al. In vitro investigation of aluminum and fluoride release from compomers, conventional and resin-modified glass-ionomer cements: a standardized approach. *J Biomater Sci Polym Ed* 2000;11:289-300.
- [17] Freedman R, Diefenderfer KE. Effects of daily fluoride exposures on fluoride release by glass ionomer-based restoratives. *Oper Dent* 2003;28:178-85.
- [18] Hattab FN, Amin WM. Fluoride release from ionomer restorative materials and the effects of surface coating. *Biomaterials* 2001;22:1449-58.
- [19] Kuhn AT, Wilson AD. The dissolution mechanism of silicate and glass-ionomer dental cements. *Biomaterials* 1985;6:378-82.
- [20] Grisp S, Lewis BG, Wilson AD. Glass ionomer cements: chemistry of erosion. *J Dent Res* 1976;55:1032-41.
- [21] Perrin C, Persin M, Sarrazin J. A comparison of fluoride release from four glass ionomer cements. *Quintessence Int* 1994;25:605-8.
- [22] Fukazawa M, Matsuya S, Yamane M. The mechanism for erosion of glass-ionomer cements in organic-acid buffer solutions. *J Dent Res* 1990;69:1175-9.
- [23] Auschill TM, Artweiler NB, Netuschil L, Brex M, Reich E, Sculean A, et al. Spatial distribution of vital and dead microorganisms in dental biofilms. *Arch Oral Biol* 2001;46:471-6.
- [24] Hattab FN, Green RM, Pang KM, Mok YC. Effect of fluoride containing chewing gum on remineralization of carious lesions and on fluoride uptake in man. *Clin Prevent Dent* 1989;11:6-11.
- [25] Dijkman G, De Vries J, Lodding A, Arens J. Long term fluoride release of visible light-activated composites in vitro: a correlation with in situ demineralisation data. *Caries Res* 1993;27:117-23.
- [26] Mohamed-Tahir MA, Yap AUJ. Effects of pH on the surface texture of glass ionomer based/containing restorative materials. *Oper Dent* 2004;29:586-91.

Conclusioni generali

Probabilmente per i tempi operativi ristretti i sistemi adesivi *all in one* sono da considerarsi la prima scelta operativa in un paziente scarsamente collaborante. Infatti, i valori di adesione dei sistemi adesivi *all in one* risultano sovrapponibili ai risultati offerti dai sistemi adesivi che presentano una fase di *bonding* separata dal *primer*. Anche dopo attacco acido il calo dei valori di adesione risulta sovrapponibile. Il problema principale riscontrato è quello della permeabilità riscontrata negli adesivi *all in one* e che risulta aumentata dopo stoccaggio in soluzione acida. Saranno comunque necessari ulteriori studi per valutare se effettivamente le problematiche osmotiche riscontrate *in vitro* nei sistemi adesivi e in particolare in quelli *all in one* abbiano un riflesso clinico che pregiudichi i restauri a causa della dissoluzione del sistema adesivo.

Sicuramente da sottolineare il ruolo del fluoro in una tipologia di pazienti che presenta basso pH e scarsa igiene. Interessante valutare quindi materiali caricati con fluoro che possano influenzare con il loro rilascio l'equilibrio demineralizzazione-reminerizzazione. Da questo punto di vista risultano estremamente interessanti sistemi adesivi caricati con fluoro e cementi vetro-ionomerici, che però, a causa delle loro scarse proprietà meccaniche possono essere per ora usati solo come provvisori di lunga durata.

Curriculum vitae

Nato a Firenze il 04/04/1979

1998 Maturità Scientifica conseguita presso il Liceo Scientifico A. Righi di Bologna
con votazione 60/60 con “Distinzione per merito”

1998 Iscrizione al Corso di Laurea in Odontoiatria e Protesi Dentaria della Facoltà di
Medicina e Chirurgia dell’Università di Bologna

1998 Entra a far parte del Collegio Superiore dell’Università di Bologna

2003 Laurea in Odontoiatria e Protesi Dentaria presso l’Università di Bologna con
votazione 110/110 e Lode

2003 Consegue la Licenza del Collegio Superiore come primo laureato in discipline
scientifiche

2004 Entra nel Dottorato di Ricerca in “Odontoiatria per Disabili” dell’Università di
Bologna coordinato dalla Prof.ssa G. Piana

Pubblicazioni

1. Chersoni S, **Acquaviva GL**, Suppa P, Ferrari M, Ferrieri P, Tay FR, Prati C. Protezione di preparazioni protesiche di monconi vitali. Studio in vivo. Il Dentista Moderno 2004;5:55-59.
(Articolo)
2. Nucci C, **Acquaviva GL**, Marchionni S, Mazzoni A, Prati C.. Alterazioni della superficie dello smalto indotte da perfusione acida:effetto protettivo di paste dentifricie contenenti fluoro. Studio al SEM. Dentista Moderno 2004 **(Articolo)**
3. **Acquaviva GL**, Breschi L, Di Lenarda R, Piana G, Chersoni S, Prati C. Adesione e adesivi fra ricerca e clinica: stato dell'arte. Il Dentista moderno 2004; 7: 25-56 **(Articolo)**
4. Gandolfi MG, **Acquaviva GL**, Chersoni S, Prati C, Mongiorgi R. Rilascio ed assorbimento di ioni fluoruro da parte di cementi vetro-ionomerici in ambienti a diverso pH. It J Oper Dent 2004; 2: 57-58 **(Poster + abstract)**
5. **Acquaviva GL**, Piana G, Nucci C, Chersoni S, Pizzi S, Prati C. Permeabilità e osmosi dello strato ibrido marginale nei restauri in composito. It J Oper Dent 2004; 2: 33 **(Poster + abstract)**
6. Chersoni S, **Acquaviva GL**, Ferrari M, Grandini S, Pashley DH, Prati C, Tay FR. In vivo fluid movement through adhesive in post space. J Dent Res 2004; 83 # 1780 **(Poster+ abstract)**
7. Nucci C, **Acquaviva GL**, Marchionni S, Cocchi S, Mongiorgi R, Gandolfi MG, Prati C. Morphology of Enamel After Perfusion with Acid and Toothpastes Application. J Dent Res 2004; 83 # 3586 **(Poster + abstract)**

8. Nucci C, Piana G, **Acquaviva GL**, Marchionni S, Foschi F, Zucchelli G, Prati C. Root Dentin Ultramorphology after Manual Root Planing and Power Toothbrushing. J Dent Res 2004; 83 # 3797 (**Poster + abstract**)
9. Sauro S, Watson TF, Nucci C, Chersoni S, Marchionni S, **Acquaviva GL**, Prati C. Bonding system applied on root dentin: a SEM replica study. J Dent Res 2004; 83 # 3171 (**Poster + abstract**)
10. Prati C, Chersoni S, **Acquaviva GL**, Breschi L, Suppa P, Tay FR, Pashley DH. Permeability of marginal hybrid layers in composite restorations. Clin Oral Investig. 2005; 9:1-7 (**Articolo**)
11. Chersoni S, **Acquaviva GL**, Prati C, Ferrari M, Grandini S, Pashley DH, Tay FR. In vivo fluid movement through dentin adhesives in endodontically-treated teeth. J Dent Res 2005;84:223-7 (**Articolo**)
12. **Acquaviva GL**, Cetrullo N, Pozzani E, Rapisardi C, Piana G. Oral health care in patient with Williams Syndrome. (**Poster + abstract Congresso europeo sindrome di Williams, Roma**)
13. Mazzoni A, Suppa P, Prati C, Ruggeri A, **Acquaviva GL**, Breschi L Effect of chondroitinase treatment on Micro-Tensile Bond Strength. J Dent Res 2005; 84 # 1452 (**Poster**)
14. Avanzi F, Cocchi S, **Acquaviva GL**, Piana G, Zamagni MP. Electronic-prevention ed electronic-education: un nuovo strumento per l'igienista in pedodonzia. Collegio dei Docenti 2005 #672 (**Poster**)
15. Pozzani E, **Acquaviva GL**, N. Cetrullo, C. Rapisardi, G. Piana. Pedagogia delle immagini e odontoiatria nei bambini con disturbi pervasivi dello sviluppo. Collegio dei Docenti 2005 #671 (**Poster**)

16. Cetrullo N, **Acquaviva GL**, Cocchi S, Eusebi V, Piana G. La morsicatio buccarum nel paziente disabile. Collegio dei Docenti 2005 #668 (**Poster+ abstract**)
17. Sambri V, Montebugnoli L, Cavrini F, **Acquaviva GL**, Magnani G, Prati C. Association between oral status and bacteria detected in atheromatous plaques. J Dent Res 2005; 84 # 498 (**Poster+ abstract**)
18. Sauro S, Chersoni S, **Acquaviva GL**, Breschi L, Watson TF, Pashley DH, Piana G, Mannocci F, Mongiorgi R. Permeability of modern adhesives under simulated intrapulpal pressure. J Dent Res # 515 (**Poster+ abstract**)
19. **Acquaviva GL**, Chersoni S, Oikonomoy S, Piana G, Prati C. Riduzione dell'adesione dentinale dopo immersione in soluzione cariogena. # 642 Collegio dei Docenti Roma 2006 (**Poster+ abstract**)
20. Gandolfi MG, Chersoni S, **Acquaviva GL**, Piana G, Prati C, Mongiorgi R. Fluoride release and absorption at different pH from glass-ionomer cements. Dental Materials 2006; 22:441-9. (**Articolo**)
21. **Acquaviva GL**, Chersoni S, Oikonomoy S, Piana G, Prati C. Degradazione dello strato ibrido e riduzione dell'adesione dentinale dopo immersione in soluzione cariogena. G It Cons 2006; 4: 56-9 (**Articolo**)
22. Montanari M., Pirani C., **Acquaviva GL**, Piana G., Prati C. Adhesion between fiber posts and root canal dentine: is it possible? G It Cons 2006; 4 (suppl 1): 154