

# Farklı Adeziv Uygulama Tekniklerinin Dentine Mikrogerilim Bağlanma Dayanımlarının Değerlendirilmesi

## Evaluation of Different Adhesive Applications on Dentine Microtensile Bond Strength

Gülşah YENİER YURDAGÜVEN<sup>1</sup>(ORCID-0000-0002-6543-1552), Berna TARIM<sup>2</sup>(ORCID-0000-0003-3869-0193)

<sup>1</sup>İstanbul Okan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi ABD, İstanbul, Türkiye

<sup>1</sup>Istanbul Okan University Faculty of Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Istanbul, Turkey

<sup>2</sup>Nişantaşı Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi ABD, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Nişantaşı University Faculty of Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Istanbul, Turkey

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, basitleştirilmiş adeziv sistemlerde farklı adeziv uygulama tekniklerinin dentine olan mikrogerilim bağlanma dayanımına ( $\mu$ TBS) etkisini değerlendirmektir.

**Gereç ve Yöntemler:** Yetmiş iki adet çekilmiş çürüksüz insan üçüncü büyük azı dişi rastgele 18 gruba ayrıldı (n=4). Dentin yüzeyleri #600-grit silikon-karbit kâğıt ile cilalandı. Kontrol grubunu Clearfil SE Bond [SE] (Kuraray), deney gruplarını iki aşamalı etch&rinse Adper Single Bond2 [SB] (3M ESPE) ve tek aşamalı self-etch Clearfil S3 Bond [S3] (Kuraray) oluşturdu. Test edilen adezivler, üretici firmanın talimatları [Kontrol] veya %2 Klorheksidin ile [CHX], veya iki kat adeziv uygulaması ile [x2K] veya ilave hidrofobik reçine tabaka [HR] ile uygulandı. Kompozit blok (Filtek Ultimate, 3M ESPE) tabakalama yöntemiyle oluşturuldu ve distile suda bekletildi (24 saat/37°C). 1mm<sup>2</sup> reçine-dentin çubuklarına (Isomet) ayrılarak hemen [24sa] veya 37°C'de altı ay [6.ay] suda bekletildikten sonra  $\mu$ TBS testine tabi tutuldu (Bisco) (Çapraz kafa hızı 0.5 mm/dk). Veriler Three-way ANOVA ve post-hoc Tukey testleri kullanılarak analiz edildi (p<0.05).

**Bulgular:** Dentine  $\mu$ TBS değerleri; adeziv sisteme (p:0.001), adeziv uygulama tekniklerine (p:0.001), zamana (p:0.001) göre anlamlı farklılık göstermiştir. SE-Kontrol en yüksek  $\mu$ TBS gösterirken (p:0.001), SB-Kontrol ve S3-Kontrol arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır (p>0.05). Tüm grupların 6.ay  $\mu$ TBS değerleri anlamlı düzeyde azalmıştır (p<0.01). HR ve x2K, CHX ve Kontrol gruplarından anlamlı düzeyde daha yüksek  $\mu$ TBS sergilerken (p<0.01), CHX ve Kontrol arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0.05). Adezivler karşılaştırıldığında 6.ayda, x2K ve HR uygulaması S3'de anlamlı düzeyde yüksektir (p<0.01).

**Sonuçlar:** HR ve x2K dentine  $\mu$ TBS değerlerini arttırırken; CHX ile anlamlı düzeyde bir artış gözlenmemiştir.

**Anahtar kelimeler:** Dental adezivler, dentin, dentin yapıştırma ajanları, klorheksidin, uzun ömürlülük

### ABSTRACT

**Background:** The aim of this study was to evaluate the effect of different adhesive applications on dentine microtensile bond strength ( $\mu$ TBS) in simplified adhesive systems.

**Methods:** Seventy-two extracted non-carious human third molars were randomly divided 18 groups (n=4). Dentin surfaces were polished with #600-grit silicon-carbide paper. Two-step etch&rinse Adper Single Bond2 [SB] (3M ESPE) and one-step self-etch Clearfil S3 Bond [S3] (Kuraray) were tested, two-step self-etch Clearfil SE Bond [SE] (Kuraray) was used as control. The tested adhesives were applied according to the manufacturer's instructions [MI] or with 2% Chlorhexidine [CHX] or double application of the adhesive [DA] or with hydrophobic resin layer [HR]. Composite build-up (Filtek Ultimate, 3M ESPE) was restored incrementally and stored in distilled water (24h/37°C). Teeth were sectioned as 1mm<sup>2</sup> resin-dentin sticks (Isomet) and subjected to  $\mu$ TBS test (Bisco) immediately [24h] or after six months of water-storage [6M] (Crosshead speed:0.5mm/min.) Data were analyzed by Three-way ANOVA and post-hoc Tukey's tests (p<0.05).

**Results:** The dentine  $\mu$ TBS was significantly influenced by the adhesive system (p:0.001), adhesive applications (p:0.001), and storage time (p:0.001). The highest  $\mu$ TBS was found in SE-MI (p<0.05), while the interaction between SB-MI and S3-MI was not significant (p>0.05). The  $\mu$ TBS of all groups decreased significantly at 6M (p<0.01). HR and DA showed significantly higher  $\mu$ TBS than CHX and MI (p<0.01), while no significant difference was found between CHX and MI (p>0.05). When adhesives were compared, DA and HR were significantly higher  $\mu$ TBS in S3 (p<0.01).

**Conclusion:** HR and DA improved the  $\mu$ TBS while no significant enhancement was observed by CHX.

**Keywords:** Chlorhexidine, dental adhesives, dentin, dentin bonding agents, longevity

### GİRİŞ

Mine dokusuna bağlanma rutin olarak gerçekleştirilen güvenilir bir yöntem olmasına karşın dentin dokusuna bağlanma dentinin heterojen yapısı ve kompozisyonuna bağlı olarak oldukça karmaşıktır.<sup>1-2</sup> Dentin dokusuna bağlanmadaki başarı kriterleri arasında; frezle veya kimyasal işlemler sonrasındaki dentinin yüzey özellikleri ve adeziv sistemlerin fiziko-kimyasal özellikleri ile bağlanma stratejileri yer almaktadır.<sup>3-5</sup> Reçine-dentin ara yüzeyi reçine co-monomerlerin dentin dokusuna infiltrasyonu ile oluşmaktadır.<sup>6</sup> Ara yüzeyin stabilitesi adeziv sistemlerin içerikleri ve mineralize/ demineralize dentin dokusuna olan infiltrasyonun doğru bir şekilde gerçekleşmesi esasına dayanmaktadır ve etch&rinse adeziv sistemler ile self-etch adeziv sistemlerde belirgin farklılıklar göstermektedir.<sup>7-9</sup>

Basitleştirilmiş adeziv sistemler olan iki aşamalı etch&rinse (5.Jenerasyon) ve tek aşamalı self-etch (7.Jenerasyon) adeziv sistemler geliştirilmiş; klinik uygulama aşamaları azaltılarak kullanım kolaylığı ve hassasiyetin azaltılması amaçlanmıştır.<sup>10</sup> Ancak basitleştirme işlemi ile hidrofilik monomerler ilave edilmiş ve solvent miktarı arttırılarak adezivin doğal nemli dentin dokusuna uyumlu olması sağlanmıştır. Adeziv sistemin hidrofilik özelliği, polimerize olmuş adeziv tabaka içinde su veya solventin bulunması ve su emilimine bağlı olarak polimerin şişerek plastikleşmesi reçinenin degradasyonundan sorumlu olan faktörlerdir.<sup>11-13</sup>

Reçine monomerinin demineralizasyon alanına tam penetrasyonunun sağlanamaması, kollajen fibrillerin açığa çıkması, *Matrix Metalloproteinazların* (MMP) hibrit tabakasının organik içeriğini yıkıma uğratmaları kollajen fibrillerin degradasyonuna neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda reçine ve kollajenlerin hidrolize uğraması ile adeziv ara yüzeyde degradasyon, bağlanma dayanım değerlerinde azalma ve bağlanmanın zaman içerisinde sürekliliğinin azaldığı saptanmıştır.<sup>8,14-16</sup> Adeziv ara yüzey degradasyonunu inceleyen *in vitro* bağlanma çalışmalarında *in vivo* çalışmalardaki degradasyona benzer sonuçlar gösteren, basit ve güvenilir bir yöntem olan suda bekletme yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>17-18</sup>

Gönderilme Tarihi/Received: 16 Ocak, 2023

Kabul Tarihi/Accepted: 13 Şubat, 2023

Yayınlanma Tarihi/Published: 15 Haziran, 2023

Atıf Bilgisi/Cite this article as: Yenier Yurdagüven G, Tarım B, Farklı Adeziv Uygulama Tekniklerinin

Dentine Mikrogerilim Bağlanma Dayanımlarının Değerlendirilmesi. Selcuk Dent J 2023; Selcuk Üniversitesi

3. Uluslararası Yenilikçi Diş Hekimliği Kongresi Özel Sayı: 210-217 Doi: 10.15311/ selcukdentj.1235999

Sorumlu yazar/Corresponding Author: Gülşah YENİER YURDAGÜVEN

E-mail: gulsahyenier@gmail.com

Doi: 10.15311/ selcukdentj.1235999

Bu çalışmada; iki aşamalı etch&rinse ve tek aşamalı self-etch adeziv sistem olmak üzere iki farklı basitleştirilmiş adeziv sistemde adeziv ara yüzey degradasyonunu azaltmak için; MMP inhibitörü olarak %2 Klorheksidin (CHX) uygulaması, adezivin iki kat olarak uygulanması, ilave hidrofobik reçine tabaka uygulamasının dentine olan 24 saat ve 6 ay sonraki mikrogerilim bağlanma dayanımlarını değerlendirerek adeziv uygulama tekniklerinin degradasyona olan etkisini incelemek amaçlanmıştır. Çalışmanın birinci sıfır hipotezi, basitleştirilmiş adeziv sistemler ile iki aşamalı self-etch adezivin dentine mikrogerilim bağlanma dayanımları arasında fark yoktur. İkinci sıfır hipotezi, adeziv uygulama teknikleri arasında dentine mikrogerilim bağlanma dayanımları arasında fark yoktur.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Tıbbi, Cerrahi ve İlaç Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylandı (Dosya no: 2014/279). Çalışmada son üç ay içerisinde çekilmiş olan 72 adet defeksiz üçüncü molar dişi kullanıldı. Çekilen dişlerin periodontal kalıntıları temizlenerek %0.5' lik Chloramin Trihydrate (Chloramin T, Merck KGaA 64271 Darmstadt, Germany) solüsyonunda 1 hafta bekletilerek distile suya alındı ve buzdolabında 4°C' de saklandı. Çalışmamızda kontrol grubunu iki aşamalı self-etch adeziv Clearfil SE Bond (Kuraray Medical, Tokyo, Japan); deney gruplarını basitleştirilmiş adeziv sistemler iki aşamalı etch&rinse adeziv Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St Paul, MN, USA) ve tek aşamalı self-etch adeziv Clearfil S3 Bond (Kuraray Medical, Tokyo, Japan) oluşturdu. Çalışmada kullanılan adeziv sistemlerin içerikleri, üretici firma ve üretim numaraları Tablo 1' de belirtilmektedir.

**Tablo 1. Çalışmada kullanılan adeziv sistemlerin kimyasal içerikleri, üretici firmaları, üretim numaraları (LOT), ve uygulama prosedürleri**

Materyal	Kimyasal İçerik	Uygulama Prosedürleri
Scotchbond Etchant 3M ESPE, St Paul, MN, USA LOT: 7523	%37' lik Fosforik Asit Jel	15 sn. dentin yüzeyine uygulanır. Ardından 10 sn. boyunca basınçlı hava su spreyi ile yıkama yapılır. Yüzeyin nemli kalması için hava ile hafifçe kurutulur
Clearfil SE Bond Kuraray Medical, Tokyo, Japan Primer: 2U0022 Bond: 2T0039	Primer: MDP, HEMA, Hidrofilik Dimetakrilat, dl-kamforokinon, N,N-dietanol-p-tolidin, Su Bond: MDP, Bis-GMA, HEMA, Hidrofobik Dimetakrilat, dl-kamforokinon, N,N-dietanol-p-tolidin, silanlanmış kolloidal silika	Bir tabaka primer sürülür, 20 sn. beklenir, hava ile kurutulur, Adeziv uygulanır. Fazla adeziv hava sıkılarak uzaklaştırılır. 10 sn. ışık kaynağı ile polimerize edilir.
Adper Single Bond 2 3M ESPE, ST Paul, MN, USA LOT: 51202	Etil Alkol, Bis-GMA, Silika Nanopartiküller, HEMA, Gliserol, 1,3 Dimetakrilat, Akrilik Asit Kopolimer, İtikonik asit, Diüretan Dimetakrilat, Su	Dentin yüzeyine 15 sn. iyice emdirilerek 2-3 kat uygulanır. Çözücülerini buharlaştırmak için hafifçe 5 sn. hava uygulanır. 10 sn. ışık kaynağı ile polimerize edilir.
Clearfil S3 Bond Kuraray Medical, Tokyo, Japan LOT: 9D0002	MDP, Bis-GMA, HEMA, dl-kamforokinon, etanol, kolloidal silika, su,	Bir tabaka adeziv uygulanır, 20 sn. beklenir. 5 sn. süre ile yüksek basınçlı hava sıkılarak kurutulur. 10 sn. ışık kaynağı ile polimerize edilir.

Deney grupları, üretici firma talimatları doğrultusunda uygulanan kontrol grubu (K), Klorheksidin uygulaması (CHX), adezivin iki kat olarak uygulanması (x2K), ilave hidrofobik reçine uygulaması (HR) olmak üzere dört alt gruba ayrıldı. Hidrofobik reçine olarak Clearfil SE Bond' un Bond' u kullanıldı. Farklı adeziv uygulama prosedürleri Tablo 2' de gösterilmektedir.

**Tablo 2. Deney grupları ve uygulama prosedürleri**

Deney grupları	Uygulama Prosedürü
Kontrol grubu	Adeziv sistemler üretici firma talimatları doğrultusunda uygulanmıştır.
CHX grubu	Çalışmada %2 Klorheksidin diğlkonat (CHX) solüsyonu olarak Cavity Cleanser (LOT:1300001311; Bisco, Inc., Schaumburg, IL, USA) kullanılmıştır. Etch&rinse adeziv sistemde % 37 fosforik asit kullanımından sonra, self-etch adeziv sistemde ise adeziv uygulamasından önce CHX aplikatör ile uygulanmıştır. Solüsyonun fazlası absorbe edici kâğıtla uzaklaştırılmış, hava ile kurutma yapılmamıştır.
x2K grubu	İlk tabaka adeziv uygulandıktan sonra 5 sn. hafif hava ile kurutulmuş; ikinci tabaka adeziv dentin yüzeyine iyice emdirilerek sürülmüştür. 5 sn. hafif hava ile kurutulduktan sonra 10 sn. ışık kaynağı ile polimerize edilmiştir.
HR grubu	Kontrol grubu uygulamasından sonra, bir tabaka bond (LOT: 2T0039; Clearfil SE Bond, Kuraray Medical, Tokyo, Japan) aplikatör ile tüm kavite yüzeylerine uygulanmıştır. Hava ile kurutulurak, ışık kaynağı ile 10 sn. polimerize edilmiştir.

Çalışmamız, dentine olan 24 saat ve 6 ay sonraki mikrogerilim bağlanma dayanımlarını ( $\mu$ TBS) ölçmek için iki farklı zaman dilimini içermektedir. Dişler rastgele 18 gruba ayrılarak, her bir adeziv uygulaması ve saklama süresi için dört diş kullanıldı (n=4). Dişlerin oklüzal mineleri kaldırıldıktan sonra dentin yüzeyi 600 grit silikon karbid kâğıt (Buehler, Düsseldorf, Germany) ile 60sn. cilalandı. Adeziv uygulamaları sonrasında, 2 mm tabakalar halinde, 5 mm yüksekliğinde kompozit blok oluşturuldu (Universal Restorative A2; 3M ESPE, St Paul, MN, USA) ve 20 sn. ışıkla polimerize edildi (Optilux 501 Halogen Curing Light, Kerr, Orange, CA, USA). Restorasyonları tamamlanan dişler etüvde 37°C 24 sa distile suda bekletildi. 1 mm<sup>2</sup> reçine-dentin çubuklarına (Isomet 1000, Buehler Ltd, IL, USA) ayrılarak her diştten yaklaşık 10-13 adet çubuk elde edildi. Çalışmanın uzun dönem kısmında, reçine-dentin çubukları etüvde 6 ay boyunca 37°C distile suda bekletildi ve örneklerin bekletildiği su periyodik olarak haftada bir değiştirildi. Örnekler, hemen [24sa] veya altı ay [6.ay] sonra  $\mu$ TBS testine tabi tutuldu (Bisco, Schaumburg, IL, USA). Reçine-dentin çubukları Pattex (Henkel, Düsseldorf, Germany) ile sabitlendi ve çapraz kafa hızı 0.5 mm/dk. ile 500 N/mm<sup>2</sup> kuvvet uygulandı. Örneklerin boyutları dijital kumpas (Tchibo, Hamburg, Germany) ile ölçülerek bağlanma yüzey alanı hesaplandı. Kırılma anındaki

kuvvetin (Newton) bağlanma yüzey alanına (mm<sup>2</sup>) bölünmesiyle elde edilen  $\mu$ TBS değeri Megapascal' a (MPa= N / mm<sup>2</sup>) çevrildi. Kopma yüzeyleri 30X büyütmede incelendi (Olympus SZ61, Munster, Germany).

### İstatistiksel Yöntem ve Değerlendirme

Çalışma verilerinin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) kullanıldı. Veriler Three-way ANOVA testi, post hoc testler Tukey HDS ve Tamhane's T2 kullanılarak analiz edildi (p<0.05).

### BULGULAR

Çalışmada kullanılan adeziv sistemlerin ve farklı adeziv uygulamalarının dentine olan  $\mu$ TBS ortalama değerleri (MPa) ve standart sapmaları **Tablo 3- 5**'de gösterilmektedir. Veriler, Three-Way ANOVA Testi ile analiz edildiğinde  $\mu$ TBS değerleri kullanılan adeziv sisteme (p:0.001), adeziv uygulama tekniklerine (p:0.001), zamana (p:0.001) göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir.

Oneway ANOVA testi sonuçlarına göre; kontrol grubu SE Bond ile çalışmadaki adeziv sistemlerin  $\mu$ TBS ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (p:0.001; p<0.01). Anlamlılığın hangi adeziv sistemden kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Tamhane's T2 test sonucunda, 24sa ve 6.ayda SE-Kontrol en yüksek  $\mu$ TBS'yi göstermiştir (p:0.001). SB-Kontrol ve S3-Kontrol  $\mu$ TBS ortalamaları arasında 24sa (p:0.109; p>0.05). ve 6.ayda (p:0.681; p>0.05) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (**Tablo 3**).

**Tablo 3. Adeziv sistemlerin kontrol gruplarının 24sa ve 6.ay  $\mu$ TBS ortalama değerleri**

Uygulama	Zaman	SE	SB	S3	p
		Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
Kontrol	24sa	46.41±4.65 <sup>a,B</sup>	40.19±5.64 <sup>b,B</sup>	40.34±5.06 <sup>b,B</sup>	0.001**
	6.ay	41.92±4.29 <sup>a,A</sup>	30.04±3.63 <sup>b,A</sup>	31.06±5.62 <sup>b,A</sup>	0.001**

Oneway ANOVA test \*\*p<0.01

\*Farklı küçük harfler satırlardaki, farklı büyük harfler sütunlardaki ortalama mikrogerilim bağlanma dayanımı değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

Çalışmamızda farklı adeziv uygulama teknikleri karşılaştırıldığında; CHX uygulaması 24sa ve 6.ay  $\mu$ TBS değerlerinde anlamlı fark oluşturmazken (p>0.05), x2K ve HR anlamlı düzeyde daha yüksek bağlanma dayanımına neden olmuştur (p<0.05). En yüksek  $\mu$ TBS değeri HR grubunda gözlenmiştir (p<0.01) (**Tablo 4**). Post hoc Tamhane's T2 test sonucunda SB-HR grubunun 24 sa ve 6.ay  $\mu$ TBS değeri, SB-K (p:0.001;p:0.001), SB-CHX (p:0.001;p:0.001) ve SB-x2K (p:0.002;p:0.006) grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.01). S3-HR grubunun 24sa ve 6.ay  $\mu$ TBS değeri, S3-K (p:0.001;p:0.001), S3-CHX (p:0.001;p:0.001) ve S3-x2K (p:0.001;p:0.033) grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (**Tablo 4**).

**Tablo 4. Farklı adeziv sistemler ve farklı zamanlardaki adeziv uygulamaların  $\mu$ TBS ortalama değerleri**

Adeziv Sistemler	Kontrol	CHX	x2K	HR	p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
<b>SB</b>					
24sa	40.19±5.64 <sup>a,B</sup>	40.68±4.37 <sup>a,B</sup>	43.23±4.17 <sup>b,B</sup>	47.1±5.69 <sup>c,B</sup>	0.001**
6.ay	30.04±3.63 <sup>a,A</sup>	34.58±3.9 <sup>a,A</sup>	36.29±3.92 <sup>b,A</sup>	38.96±4.0 <sup>c,A</sup>	0.001**
<b>S3</b>					
24sa	40.34±5.06 <sup>a,B</sup>	39.22±4.42 <sup>a,B</sup>	46.63±5.21 <sup>b,B</sup>	48.87±5.05 <sup>c,B</sup>	0.001**
6.ay	31.06±5.62 <sup>a,A</sup>	35.14±4.0 <sup>a,A</sup>	37.67±5.54 <sup>b,A</sup>	40.52±3.62 <sup>c,A</sup>	0.001**

Oneway ANOVA test \*\*p<0.01

\*Farklı küçük harfler satırlardaki, farklı büyük harfler sütunlardaki ortalama mikrogerilim bağlanma dayanımı değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

OneWay ANOVA testi sonuçlarına göre adeziv sistemler birbiriyle karşılaştırıldığında; 24sa.  $\mu$ TBS değerlerinde S3-x2K grubu; ve 6.ay  $\mu$ TBS değerlerinde S3-x2K ve S3-HR grubu anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p:0.001; p<0.01) (**Tablo 4**). Çalışmamızdaki tüm grupların 24sa  $\mu$ TBS değerleri ortalaması, 6.ay  $\mu$ TBS değerleri ortalamalarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p:0.001; p<0.01). (**Tablo 5**).

**Tablo 5. Farklı adeziv uygulamalarının adeziv sistemlerin 24 sa ve 6.ay  $\mu$ TBS ortalama değerleri**

Uygulama	Zaman	SB	S3	p
		Ort±SS	Ort±SS	
CHX	24 sa	40.68 ± 4.37 <sup>a,B</sup>	39.22 ± 4.42 <sup>a,B</sup>	0.120
	6.ay	34.58 ± 3.9 <sup>a,A</sup>	35.14 ± 4.0 <sup>a,A</sup>	0.505
x2K	24 sa	43.23 ± 4.17 <sup>a,B</sup>	46.63 ± 5.21 <sup>b,B</sup>	0.001**
	6.ay	36.29 ± 3.92 <sup>a,A</sup>	37.67 ± 5.54 <sup>b,A</sup>	0.178
HR	24 sa	47.10 ± 5.69 <sup>a,B</sup>	48.87 ± 5.05 <sup>a,B</sup>	0.110
	6.ay	38.96 ± 4.0 <sup>a,A</sup>	40.52 ± 3.62 <sup>b,A</sup>	0.049*

Student t Test \*\*p<0.01

\*Farklı küçük harfler satırlardaki, farklı büyük harfler sütunlardaki ortalama mikrogerilim bağlanma dayanımı değerleri arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir (p<0.05).

Çalışmamızda yer alan tüm gruplarda çoğunlukla adeziv/miks başarısızlık gözlenmiştir (**Tablo 6**). En yüksek adeziv/miks kopma oranı 24sa SB-x2K' da (%97.7), 6.ayda ise SB-x2K (%95.7) ve S3-HR (%95.7) gruplarında saptanmıştır.

Tablo 6. Farklı adeziv sistemler ve farklı adeziv uygulamaların 24sa ve 6.ay başarısızlık tipi dağılımları

Adeziv sistem	Uygulama	24sa			6.ay		
		Adeziv/Miks	Kompozitte Koheziv	Dentinde Koheziv	Adeziv/Miks	Kompozitte Koheziv	Dentinde Koheziv
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
SE	Kontrol	40 (% 93.0)	2 (% 4.7)	1 (% 2.3)	40 (% 88.9)	5 (% 11.1)	-
SB	Kontrol	42 (% 93.3)	2 (% 4.4)	1 (% 2.2)	41 (% 91.1)	4 (% 8.9)	-
	CHX	43 (% 95.6)	2 (% 4.4)	0 (% 0)	41 (% 91.1)	4 (% 8.9)	-
	x2K	43 (% 97.7)	0 (%0)	1 (% 2.3)	44 (% 95.7)	2 (% 4.3)	-
	HR	47 (% 94.0)	2 (% 4.0)	1 (% 2.0)	42 (% 91.3)	4 (% 8.7)	-
S3	Kontrol	42 (% 95.5)	2 (% 4.5)	0 (% 0)	37 (% 84.1)	7 (% 15.9)	-
	CHX	41 (% 93.2)	3 (% 6.8)	0 (% 0)	40 (% 88.9)	5 (% 11.1)	-
	x2K	44 (% 93.6)	2 (% 4.3)	1 (% 2.1)	37 (% 86.0)	6 (% 14.0)	-
	HR	45 (% 95.7)	0 (% 0)	2 (% 4.3)	44 (% 95.7)	2 (% 4.3)	-

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, iki farklı basitleştirilmiş adeziv sistemde adeziv ara yüzey degradasyonunu azaltmak için kullanılan adeziv uygulama tekniklerinin dentine olan 24 saat ve 6.ay mikrogerilim bağlanma dayanımları değerlendirilmiştir. Günümüzde adeziv ara yüzey ile ilgili bilgiler çoğunlukla mikrogerilim bağlanma dayanım testi ile elde edilmekte, *in vitro* yaşlandırma yöntemleri ile degradasyon hızlandırılmaktadır.<sup>7,19</sup> Bu nedenle çalışmamızda mikrogerilim test yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamızda basitleştirilmiş adeziv sistemler benzer  $\mu$ TBS gösterirken, istatistiksel olarak en yüksek değeri iki aşamalı self-etch adeziv sistem SE sergilemiştir. Bu nedenle çalışmamızın birinci sıfır hipotezi reddedilmiştir. Hidrofilik ve iyonik monomer konsantrasyonunun arttırıldığı, ayrı bir hidrofobik reçine uygulamasının yer almadığı bu basitleştirilmiş adeziv sistemler ayrıca *Hidroksietil metakrilat* (HEMA) içermektedir. HEMA, hidrofilik bir monomer olup adeziv sistemin hidrofilik özelliğinin daha da artmasına neden olmaktadır.<sup>20</sup> İki aşamalı self-etch adezivlerde ayrı bir aşama olarak solvent içermeyen hidrofobik reçine uygulamasının yer alması degradasyona karşı daha dirençli bir ara yüzey tabakasının oluşmasına neden olmakta ve adezivün yarı geçirgen "*semipermeable*" bir membran gibi davranmasını engellemektedir. Çalışmamızı destekler nitelikte, yapılan *in vitro* çalışmalarda basitleştirilmiş adeziv sistemlerin dentine olan bağlanma dayanım değerlerinin çok aşamalı adeziv sistemlerden daha düşük olduğu<sup>20-22</sup> ve uzun dönem bağlanma dayanım değerlerinin zamanla azaldığı bildirilmiştir.<sup>23-25</sup>

Clearfil SE Bond hafif asidik self-etch adeziv olup pH değeri 2.0'dır. Dentin yüzeyine uygulandığında yüzeydeki tüm hidroksiapatitleri uzaklaştırılmaz, kalan hidroksiapatitler ile içeriğinde yer alan fonksiyonel monomer "*10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate*" (10-MDP) arasında kimyasal bağlanma gerçekleşir.<sup>3, 4,26</sup> Çalışmamızdaki her iki self-etch adeziv sistemde asidik monomer 10-MDP içermesine rağmen sahip oldukları farklı pH değerleri, reçine uzantılarının derinliğini ve kalitesini etkilemektedir. Clearfil S3 Bond'un pH'ı 2.4 iken Clearfil SE Bond'un pH'ı 2.0'dır. Zayıf asiditeye sahip self-etch adezivlerin smear tabakasını tamamen demineralize edememeleri bağlanma dayanım değerlerinde farklı sonuçlara neden olmaktadır. Yapılan çalışmada adeziv tabaka kalınlığının Clearfil S3 Bond için yaklaşık 10  $\mu$ m ve Clearfil SE Bond için yaklaşık 50  $\mu$ m olduğu bildirilmiştir.<sup>19</sup>

Hashimoto ve ark.<sup>27</sup> bağlanma dayanım değerlerinin 100 günde azalmaya başladığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda yer alan tüm grupların 24 saat  $\mu$ TBS değerleri, 6. aydan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Altı ay suda bekletme sonrasında adeziv reçinesinin mekanik özelliklerinde ve elastisite modülünde azalma, su emilimi ve çözünürlüğünde artma, nanosızıtında artma ve bu nedenlerden dolayı dentine olan bağlanma dayanım değerlerinde azalma görüldüğü yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir.<sup>18, 28-29</sup>

Çalışmamızda CHX kullanılması bağlanma dayanımında anlamlı farklılığa neden olmazken HR ve x2K uygulaması dentine olan  $\mu$ TBS değerlerini anlamlı düzeyde arttırmıştır. En yüksek bağlanma dayanım değeri HR grubunda saptanmıştır. İkinci sıfır hipotezimiz kısmi olarak reddedilmiştir.

Adeziv-dentin ara yüzeyinin dayanıklılığını ve devamlılığını sağlamak amaçlı kollajenlerin degradasyonuna neden olan MMP enzim aktivitesi önlenmeli ve inhibe edilmelidir. MMP inhibitörleri ile dentindeki kollajenolitik ve jelatinolitik aktivitelerin baskılandığı, reçine-dentin bağlanma dayanımının arttığı ve degradasyon hızının azaldığı bildirilmiştir.<sup>30</sup> Bu amaçla çalışmamızda MMP inhibitörü olarak %2 CHX kullanılmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde %2 CHX uygulamasının adezivlerin dentine 24sa  $\mu$ TBS değerlerinde anlamlı bir farklılığa neden olmadığı yapılan çalışmalarda<sup>31-33</sup> bildirilmesine karşılık sığır kesici dişlerinde yapılan bir çalışmada self-etch adezivlerin dentine olan bağlanma dayanımını anlamlı düzeyde azalttığı saptanmıştır.<sup>34</sup> Yapılan başka bir çalışmada ise %0.2 CHX ve %2 CHX uygulamasının adeziv sistemlerin dentine olan 24sa  $\mu$ TBS değerlerinde farklılık oluşturmadığı<sup>31-33</sup> ancak %4 CHX' in başlangıçtaki bağlanma değerini anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir.<sup>33</sup>

Adezivlerin birkaç kat olarak uygulanması tekniğinde adeziv tabaka sayısı kadar adeziv sistemin yapısı, içerdiği solvent tipi, pH değeri de oldukça önemlidir. Bazı çalışmalarda bağlanma dayanım değerlerinde anlamlı düzeyde artış bildirilirken<sup>35,36</sup> bazı çalışmalarda ise fark bulunmamıştır.<sup>37,38</sup> Bizim çalışmamızda x2K uygulaması S3 ve SB'nin  $\mu$ TBS değerlerinde anlamlı düzeyde artışa neden olmuştur. Bulgumuzun aksine azalmaya neden olduğunu bildiren Silva ve ark.<sup>39</sup> çalışmasının metodolojisi incelendiğinde çalışmamızdan farklı olarak ilk adeziv tabaka ışık ile polimerize edildikten sonra ikinci adeziv tabakanın uygulandığı göze çarpmaktadır. Bu durumun adeziv tabakanın kalınlığında artışa neden olması ve daha düşük dönüşüm derecesi göstermesine bağlı olarak  $\mu$ TBS değerlerinde azalma görülmesi olasıdır.

Çalışmamızda adezivlerin x2K grupları karşılaştırıldığında S3' ün  $\mu$ TBS değeri anlamlı düzeyde daha yüksektir. pH düzeyine bağlı olarak aynı anda demineralizasyon ve infiltrasyon gerçekleştiren S3' de x2K uygulaması ile kollajen fibrillerin daha az açığa çıktığını, adeziv tabakada oluşan hidrojen bağlar ile daha stabil bir bağlanma oluşturduğunu ve içerdiği 10-MDP monomeri ile gerçekleşen kimyasal bağlanmanın etkisi ile adeziv ara yüzey degradasyonuna karşı daha stabil olduğunu düşünmekteyiz.

Uzun dönemde adeziv ara yüzey degradasyonunu azaltmak için kullanılan yöntemlerden birisi de polimerize olmuş basitleştirilmiş adeziv sistemlerin üzerine ilave HR uygulamasıdır.<sup>11,39-43</sup> Böylece, adeziv tabakanın üst yüzeyindeki polimerize olmamış tabakanın üzeri kaplanarak daha fazla sayıda çift bağlar oluşmakta, dönüşüm derecesi artmakta, daha kalın ve stabil bir adeziv tabakasının oluşması ile polimerizasyon stresleri azalmakta, bağlanma dayanım değerlerinde artış görülmektedir.<sup>11,40,42</sup> Ayrıca, suyun difüzyonu engellenerek uzun dönemde adeziv ara yüzey degradasyonu azalmaktadır.<sup>8,16</sup> Literatürde bizim çalışmamıza benzer şekilde dentine bağlanma dayanım değerlerinde artış görüldüğü<sup>11,39,40,42</sup>, universal adeziv sistemlerin özellikle self-etch adeziv olarak kullanılmaları durumunda dentine  $\mu$ TBS değerlerinde anlamlı düzeyde artışa neden olduğu<sup>43</sup>, iki aşamalı etch&rinse adezivlerde dentin dokusunun geçirgenliğinin azaldığı<sup>44</sup> bildirilmiştir.

Suda bekletme yönteminde örnekler çubuk kesitler şeklinde direkt olarak ya da bütün bir diş halinde indirekt olarak bekletilmektedir. Degradasyonun oluşum hızında difüzyon süresi kadar difüzyon yolunun uzunluğu da önemlidir ve difüzyon yolu olabildiğince kısaltılmalıdır.<sup>9,45,46</sup> Bu nedenle çalışmamızda elde edilen çubuk kesitler direkt olarak distile suda bekletilmiştir. Torkabadi ve ark.<sup>45</sup> çalışmasında Clearfil S3 Bond' un  $\mu$ TBS değeri (44.4±7.7 MPa), bizim çalışmamıza benzer olarak 6 ay suda direkt olarak bekletme yöntemi ile 34.1±8.19 MPa' a anlamlı düzeyde azalma gösterirken 6 ay suda indirekt bekletme yönteminde (44.8±10.7 MPa) anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda SB-K ve S3-K gruplarının 6.ay  $\mu$ TBS (30.04±3.63 MPa ve 31.06 ± 5.62 MPa) arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bizim çalışmamızla aynı adezivlerin kullanıldığı Chiaraputt ve ark.<sup>47</sup> çalışmasında 3.ay  $\mu$ TBS arasında (36.98±12.02 MPa ve 36.71±12.40 MPa) ve Feitosa ve ark.<sup>25</sup> çalışmasında 6.ay  $\mu$ TBS arasında (35.32±3.88 MPa ve 31.41±3.10 MPa) anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Her iki adeziv sistem yüksek oranda iyonik ve asidik reçine monomer içeren, hidrofobik metakrilat reçinenin olmadığı basitleştirilmiş adeziv sistemlerdir.

Aşırı hidrofilik yapıları polimerizasyondan sonra hibrit tabakasının geçirgen bir membran gibi davranmasına neden olmaktadır. Ayrı bir hidrofobik reçine uygulamasının yer almadığı bu adeziv sistemlerde suyun difüzyonu engellenememekte, adeziv tabakada su ağacı görüntüsü, hibrit tabakada nanosızıntı oluşmaktadır.<sup>22,28</sup>

Çalışmamızda SB-x2K 6.ay  $\mu$ TBS, CHX grubu bağlanma dayanım değerinden anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanırken, S3'de her iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ). Bu bulgumuz etch&rinse adezivin iki kat olarak uygulanmasının kollajen fibrillerin daha az açığa çıkmasında ve kollajen degradasyonun azalmasında MMP inhibitörü olarak CHX uygulamasından daha etkili olduğu düşünülebilir. Tek aşamalı self-etch adeziv sistemlerde ise adezivin iki kat olarak uygulanması ile adezivin mekanik özelliklerinde oluşan artışın reçinenin hidrolitik degradasyonunu önlemeye yardımcı olurken kollajen fibrillerin degradasyonu üzerindeki etkisinin sınırlı olduğu ve bu yüzden MMP inhibitörü olarak CHX uygulaması ile benzer bulgular göstermesi olasıdır.

Çalışmamızda 6.ay  $\mu$ TBS incelendiğinde, HR'nin x2K'dan anlamlı düzeyde yüksek olduğu ve tüm gruplar içinde en yüksek  $\mu$ TBS gösterdiği saptanmıştır. Bizim çalışmamızı destekler şekilde Reis ve ark.<sup>11</sup> farklı tek aşamalı self-etch adezivlerin dentine olan 6.ay  $\mu$ TBS araştırdıkları çalışmalarında HR'nin Adper Prompt L Pop (AD-3M ESPE, St. Paul, MN, USA) (29.1±3.6 MPa), Xeno III (XE-Dentsply De Trey, Konstanz, Germany) (43.2±4.8 MPa), iBond adezivi (iB-Heraeus Kulzer, Hanau, Germany) (28.2±3.1 MPa) bağlanma değerlerinin x2K uygulandığı AD (17.2±4.6 MPa), XE (30.3±4.2 MPa), iB' den (26.4±3.9 MPa) daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda  $\mu$ TBS testinde kopan örnekler analiz edildiğinde, bütün gruplarda adeziv/miks başarısızlık en yüksek orana sahiptir.<sup>47</sup> Adeziv başarısızlık tipinin fazla olmasının daha iyi bağlanma dayanımı sağladığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir.<sup>19,48</sup>

Çalışmamızın limitasyonu *in vitro* koşullar altında gerçekleştirilmesidir; bu nedenle farklı adeziv sistemlerden oluşan ve çeşitli restoratif materyaller ile bir arada kullanımının değerlendirildiği uzun döneme ait *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar gerekmektedir.

## SONUÇ

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, basitleştirilmiş adeziv sistemler dentine benzer mikrogerilim bağlanma dayanımı sergilerken, en yüksek bağlanma dayanımı iki aşamalı self-etch adeziv sistem ile elde edilmiştir. Adezivin iki kat olarak uygulanması ve ilave hidrofobik reçine uygulaması dentine olan bağlanma dayanımını anlamlı düzeyde arttırırken, klorheksidin uygulaması ile anlamlı farklılık görülmemiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 40735).

## Değerlendirme / Peer-Review

İki Dış Hakem / Çift Taraflı Körleme

## Etik Beyan / Ethical statement

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi 3. Uluslararası Yenilikçi Diş Hekimliği Kongresi'nde (25-27 Kasım 2022, Konya, Türkiye) sözlü bildiri olarak sunuldu.

Bu çalışma doktora tezinden üretilmiştir.

Bu çalışmanın hazırlanma sürecinde bilimsel ve etik ilkelere uyulduğu ve yararlanılan tüm çalışmaların kaynakçada belirtildiği beyan olunur.

This study was presented as an oral presentation at Selcuk University 3rd International Congress of Innovative Dentistry (25-27 November 2022, Konya, Turkey).

The study is a PhD doctoral thesis work.

It is declared that during the preparation process of this study, scientific and ethical principles were followed and all the studies benefited are stated in the bibliography.

**Benzerlik Taraması / Similarity scan**

Yapıldı - ithenticate

**Etik Bildirim / Ethical statement**

ethic.selcukdentaljournal@hotmail.com

**Telif Hakkı & Lisans / Copyright & License**

Yazarlar dergide yayınlanan çalışmalarının telif hakkına sahiptirler ve çalışmaları CC BY-NC 4.0 lisansı altında yayımlanmaktadır.

**Finansman / Grant Support**

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır. | The authors declared that this study has received no financial support.

**Çıkar Çatışması / Conflict of Interest**

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur. | The authors have no conflict of interest to declare.

**Yazar Katkıları / Author Contributions**

Çalışmanın Tasarlanması | Design of Study: GYY %50, BT %50

Veri Toplanması | Data Acquisition: GYY %100

Veri Analizi | Data Analysis: GYY%50, BT %50

Makalenin Yazımı | Writing up: GYY %90, BT%10

Makale Gönderimi ve Revizyonu | Submission and Revision: GYY %100

## KAYNAKLAR / RESOURCES

1. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *Journal of Dental Research* 1955; 34(6): 849-853.
2. Swift Jr EJ, Perdigão J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art. *Quintessence International* (Berlin, Germany: 1985), 1995; 26(2): 95-110.
3. Perdigão J. Dentin bonding—Variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dental Materials* 2010; 26(2): e24-e37.
4. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials* 2011; 27(1), 17-28.
5. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dental Materials* 2011; 27(1): 1-16.
6. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *Journal of Biomedical Materials Research* 1982; 16(3): 265-273.
7. Sano H. Microtensile testing, nanoleakage, and biodegradation of resin-dentin bonds. *Journal of Dental Research* 2006; 85(1): 11-14.
8. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dental Materials* 2008; 24(1), 90-101.
9. Hashimoto M. A Review—Micromorphological evidence of degradation in resin dentin bonds and potential preventional solutions. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 2010; 92(1): 268-280.
10. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Operative Dentistry* 2008; 28(3): 215-235.
11. Reis A, Albuquerque M, Pegoraro M, Mattei G, de Oliveira Bauer JR, Grande RHM, et al. Can the durability of one-step self-etch adhesives be improved by double application or by an extra layer of hydrophobic resin?. *Journal of Dentistry* 2008; 36(5): 309-315.
12. Reis AF, Carrilho MR, Ghaname E, Pereira PN, Giannini M, Nikaido T, et al. Effects of water-storage on the physical and ultramorphological features of adhesives and primer/adhesive mixtures. *Dental Materials Journal* 2010; 29(6): 697-705.
13. Loguercio AD, Mânica D, Fereda F, Zander-Grande C, Amaral R, Stanislawczuk R, et al. A randomized clinical evaluation of a one-and two-step self-etch adhesive over 24 months. *Operative Dentistry* 2010; 35(3): 265-272.
14. Hashimoto M, Nagano F, Endo K, Ohno H. A review: biodegradation of resin-dentin bonds. *Japanese Dental Science Review* 2011; 47(1): 5-12.
15. Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: a comprehensive review. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2013; 25(4): 219-241.
16. Reis A, Carrilho M, Breschi L, Loguercio AD. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin-dentin bonds. *Operative Dentistry* 2013; 38(4): E103-E127.
17. 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. *Journal of Dental Research* 2000; 79(6): 1385-1391.
18. De Munck J, Mine A, Poitevin A, Van Ende A, Cardoso MV, Van Landuyt KL, et al. Meta-analytical review of parameters involved in dentin bonding. *Journal of Dental Research* 2012; 91(4): 351-357.
19. Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dental Materials* 2010; 26(2): e78-e93.
20. Van Landuyt KL, Mine A, De Munck J, Jaecques S, Peumans M, Lambrechts P, et al. Are one-step adhesives easier to use and better performing? Multifactorial assessment of contemporary one-step self-etching adhesives. *Journal of Adhesive Dentistry* 2009;11(3): 175-190.
21. Van Landuyt KL, De Munck J, Mine A, Cardoso MV, Peumans M, Van Meerbeek B. Filler debonding & subhybrid-layer failures in self-etch adhesives. *Journal of Dental Research* 2010; 89(10): 1045-1050.
22. De Munck J, Mine A, Van den Steen PE, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, et al. Enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces produced by mild self-etch adhesives. *European Journal of Oral Sciences* 2010;118(5): 494-501.
23. Skovron L, Kogeo D, Gordillo LAA, Meier MM, Gomes OM, Reis A, et al. Effects of immersion time and frequency of water exchange on durability of etch-and-rinse adhesive. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 2010; 95(2): 339-346.
24. Zander-Grande C, Loguercio AD, Stanislawczuk R, Martins GC, Gomes OM, Reis A. The effect of 6-month water storage on the bond strength of self-etch adhesives bonded to dentin. *American Journal of Dentistry* 2011; 24(4): 239-244.
25. Feitosa VP, Leme AA, Sauro S, Correr-Sobrinho L, Watson TF, Sinhorette MA, et al. Hydrolytic degradation of the resin-dentine interface induced by the simulated pulpal pressure, direct and indirect water ageing. *Journal of Dentistry* 2012; 40(12), 1134-1143
26. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dental Materials* 2010; 26(2): e100-e121.
27. Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Tay FR, Kaga M, Kudou Y. Micromorphological changes in resin dentin bonds after 1 year of water storage. *Journal of Biomedical Materials Research* 2002; 63(3):306-311.
28. Tay FR, Pashley DH, Suh BYONG, Carvalho R, Miller M. Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part I. Bond strength and morphologic evidence. *American Journal of Dentistry* 2004;17(4): 271-278.
29. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu CE. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials* 2005; 26: 6449-6459.
30. Zhou J, Tan J, Chen L, Li D, Tan Y. The incorporation of chlorhexidine in a two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro. *Journal of Dentistry* 2009;37(10): 807-812.
31. Breschi L, Cammelli F, Visintini E, Mazzoni A, Vita F, Carrilho M. Influence of chlorhexidine concentration on the durability of etch-and-rinse dentin bonds: a 12-month in vitro study. *The Journal of Adhesive Dentistry* 2009;11(3):191.
32. Campos EA, Correr GM, Leonardi DP, Barato-Filho F, Gonzaga CC, Zielak JC. Chlorhexidine diminishes the loss of bond strength over time under simulated pulpal pressure and thermo-mechanical stressing. *Journal of Dentistry* 2009; 37(2):108-114.
33. Loguercio AD, Stanislawczuk R, Polli LG, Costa JA, Michel MD, Reis A. Influence of chlorhexidine digluconate concentration and application time on resin-dentin bond strength durability. *European Journal of Oral Sciences* 2009;117(5): 587-596.
34. Campos EAD, Correr GM, Leonardi DP, Pizzatto E, Morais EC. Influence of chlorhexidine concentration on microtensile bond strength of contemporary adhesive systems. *Brazilian Oral Research* 2009; 23(3): 340-345.
35. Hashimoto M, Sano H, Yoshida E, Hori M, Kaga M, Oguchi H, et al. Effects of multiple adhesive coatings on dentin bonding. *Operative Dentistry* 2004; 29(4):416-423.
36. D'Arcangelo C, Vanini L, Prosperi G, Di Bussolo G, De Angelis F, D'Amario M, et al. The influence of adhesive thickness on the microtensile bond strength of three adhesive systems. *Journal of Adhesive Dentistry* 2009;11(2):109-15.

37. Erhardt MC, Osorio R, Pisani-Proenca J, Aguilera FS, Osorio E, Breschi L, et al. Effect of double layering and prolonged application time on MTBS of water/ethanol-based self-etch adhesives to dentin. *Operative Dentistry* 2009;34(5): 571-577.
38. Elkassas DW, Fawzi EM, El Zohairy A. The effect of cavity disinfectants on the micro-shear bond strength of dentin adhesives. *European Journal of Dentistry* 2014; 8(2): 184-190.
39. Silva ALF, Lima DANL, Souza GMD, Santos CTD, Paulillo LAMS. Influence of additional adhesive application on the microtensile bond strength of adhesive systems. *Operative Dentistry* 2006; 31(5): 562-568.
40. King NM, Tay FR, Pashley DH, Hashimoto M, Ito S, Brackett WW. Conversion of one-step to two-step self-etch adhesives for improved efficacy and extended application. *American Journal of Dentistry* 2005; 18(2): 126-34.
41. Albuquerque M, Pegoraro M, Mattei G, Reis A, Loguercio AD. Effect of double-application or the application of a hydrophobic layer for improved efficacy of one-step self-etch systems in enamel and dentin. *Operative Dentistry* 2008; 33(5): 564-570.
42. Van Landuyt KL, Peumans M, Munck JD, Lambrechts P, Meerbeek BV. Extension of a one-step self-etch adhesive into a multi-step adhesive. *Dental Materials* 2006; 22(6): 533-544.
43. Munoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD. Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *Journal of Dentistry* 2014;42(5):595-602.
44. Silva SMDA, de Oliveira Carrilho MR, Junior LM, Garcia FCP, Manso AP, Alves MC. Effect of an additional hydrophilic versus hydrophobic coat on the quality of dentinal sealing provided by two-step etch-andrinse adhesives. *Journal of Applied Oral Science* 2009; 17(3): 184-9.
45. Torkabadi S, Nakajima M, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J. Influence of bonded enamel margins on dentin bonding stability of one-step selfetching adhesives. *The Journal of Adhesive Dentistry* 2009; 11(5): 347-353.
46. De Munck J, Shirai K, Yoshida Y, Inoue S, Van Landuyt KL, Lambrechts P, et al. Effect of water storage on the bonding effectiveness of 6 adhesives to Class I cavity dentin. *Operative Dentistry* 2006; 31(4):456-465.
47. Chiaraputt S, Roongrujimek P, Sattabanasuk V, Panich N, Harnirattisai C, Senawongse P. Biodegradation of all-in-one self-etch adhesive systems at the resin-dentin interface. *Dental Materials Journal* 2011; 30(6): 814-826.
48. Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LHA, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of “micro” bond strength test methods. *Dental Materials* 2010; 26(2): e50-e62.