
PENETRACIÓN DE TRES ADHESIVOS EN LESIONES INTERPROXIMALES DE CARIES DE MANCHA BLANCA: ESTUDIO *IN VITRO*

PENETRATION OF THREE ADHESIVES IN PROXIMAL WHITE-SPOT CARIES LESIONS: AN *IN VITRO* STUDY

OLGA LUCÍA ZARTA¹, ALBA LUCÍA ZULUAGA VALENCIA²,
MARÍA CRISTINA HUERTAS DÍAZ³, JUAN SEBASTIÁN LARA⁴, INGRID KATHERINE QUINTERO⁵,
MARISOL TÉLLEZ⁶, MARGARITA ÚSUGA⁷, STEFANIA MARTIGNON⁸

RESUMEN. *Introducción:* el tratamiento de lesiones interproximales de caries temprana representa un reto en la concepción moderna de la cariología y la operatoria. Como respuesta, además del diagnóstico temprano, emergen nuevos materiales para controlar la progresión de la caries temprana. El objetivo de este estudio fue evaluar *in vitro* el grado de penetración de tres adhesivos: Excite (Ivoclar-Vivadent), Prime & Bond NT (Dentsply) y Single Bond (3M-ESPE), en el sellado de lesiones interproximales no cavitacionales de mancha blanca. **Métodos:** 117 premolares humanos extraídos con lesión interproximal de mancha blanca ICDAS-II 2 montados en yeso, simulando la situación en cavidad oral, fueron asignados aleatoriamente a uno de los tres grupos; se sellaron las lesiones con cada material previamente mezclado con azul de metileno; se obtuvieron secciones longitudinales de 250 μm y se analizaron en fotografías obtenidas bajo estereomicroscopía. Se valoró cubrimiento total de la lesión, profundidad histológica de la lesión en zonas y en micrómetros y penetración máxima del adhesivo. **Resultados:** se analizaron 116 dientes. Se encontró cubrimiento total de la lesión en 52,5%; 75% se ubicaron en la mitad interna del esmalte, con profundidad promedio de $854 \pm 493 \mu\text{m}$. La máxima penetración promedio del adhesivo en la lesión fue de $697 \pm 412 \mu\text{m}$. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos para las variables (Kruskal Wallis

-
- 1 Odontóloga, Universidad Javeriana, Bogotá, especialista en Prosthodontia, Universidad El Bosque, Bogotá. Profesora asociada, Directora de Posgrado de Operatoria Dental, Estética y Materiales Dentales, Universidad El Bosque, Bogotá. Miembro de UNICA (Unidad de Investigación en Caries).
 - 2 Odontóloga, Colegio Odontológico Colombiano, Cali, especialista en Odontología Pediátrica, Universidad El Bosque, Bogotá. Relaciones Profesionales con Colgate Palmolive, Cali.
 - 3 Odontóloga, Universidad Cooperativa de Colombia, Pasto, especialista en Odontología Pediátrica, Universidad El Bosque, Bogotá, especialista en Ortopedia Funcional y Ortodoncia, Universidad Cooperativa de Colombia, Bogotá. Docente Universidad Cooperativa de Colombia, Pasto.
 - 4 Odontólogo, Universidad El Bosque, Bogotá. Miembro de UNICA, Universidad El Bosque. Candidato a MSc Odontopediatría, Universidad de Sao Paulo, Brasil.
 - 5 Odontóloga, Universidad El Bosque, Bogotá, residente de Posgrado de Ortodoncia, Universidad El Bosque, Bogotá.
 - 6 Odontóloga, Universidad El Bosque, Bogotá. MSc en Salud Pública y Ph. D. en Epidemiología Clínica, University of Michigan, Ann Arbor, EEUU. Profesor Asociado, Dental Public Health Sciences, Maurice H. Kornberg School of Dentistry, Temple University, Philadelphia, EEUU.
 - 7 Odontóloga, Universidad de Antioquia, Bogotá, Especialista en Odontopediatría, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Candidata a MSc en Odontología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Profesora Asociada, UNICA, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá.
 - 8 Odontóloga, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, especialista en Odontología Pediátrica y en Docencia Universitaria, Universidad El Bosque, Bogotá. Ph. D. Ciencias en Salud, University of Copenhagen, Copenhagen, Dinamarca. Profesora Asociada y Directora de UNICA, Universidad El Bosque, Bogotá.

-
- 1 Dentist, Universidad Javeriana, Bogotá; Specialist in Prosthodontics, Universidad El Bosque, Bogotá. Associate Professor, Director of the Specialization Program on Operative Dentistry, Esthetics and Dental Materials, Universidad El Bosque, Bogotá. Member of UNICA (Caries Research Unit).
 - 2 Dentist, Colegio Odontológico Colombiano, Cali, Specialist in Pediatric Dentistry, Universidad El Bosque, Bogotá.
 - 3 Dentist, Universidad Cooperativa de Colombia, Pasto, Specialist in Pediatric Dentistry, Universidad El Bosque, Bogotá, Specialist in Functional Orthopedics and Orthodontics, Universidad Cooperativa de Colombia, Bogotá. Professor, Universidad Cooperativa de Colombia, Pasto.
 - 4 Dentist, Universidad El Bosque, Bogotá. Member of UNICA. Pediatric Dentistry MSc Candidate, Universidade de São Paulo, Brasil.
 - 5 Dentist, Universidad El Bosque, Bogotá, Orthodontic student, Universidad El Bosque, Bogotá.
 - 6 Dentist, Universidad El Bosque, Bogotá. MSc in Public Health and PhD. in Clinical Epidemiology, University of Michigan, Ann Arbor, USA. Associate Professor, Dental Public Health Sciences, Maurice H. Kornberg School of Dentistry, Temple University, Philadelphia, USA.
 - 7 Dentist, Universidad de Antioquia, Bogotá, Specialist in Pediatric Dentistry, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Dentistry MSc Candidate, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Associate Professor, UNICA, Dental Faculty, Universidad El Bosque, Bogotá.
 - 8 Dentist, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Specialist in Pediatric Dentistry; specialist in Higher Education, Universidad El Bosque, Bogotá. Ph.D. in Health Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark. Associate Professor and Director of UNICA, School of Dentistry, Universidad El Bosque, Bogotá.

RECIBIDO: DICIEMBRE 6/2011-ACEPTADO: MARZO 27/2012

SUBMITTED: DECEMBER 6/2011-ACCEPTED: MARCH 27/2012

y correlación de Spearman; $p > 0,05$). **Conclusión:** estos tres adhesivos de baja viscosidad, con alto contenido de TEGDMA y HEMA, lograron el cubrimiento y la penetración de material para el sellado de lesiones tempranas de caries interproximal.

Palabras clave: manchas blancas dentales, caries dental, recubrimiento dental adhesivo.

Zarta OL, Zuluaga AL, Huertas MC, Lara JS, Quintero IK, Téllez M et al. Penetración de tres adhesivos en lesiones interproximales de caries de mancha blanca: estudio in vitro. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2012; 24(1): 84-95.

ABSTRACT. Introduction: the treatment of early proximal carious lesions represents a challenge to modern conceptions of cariology and operative dentistry. The possible solutions include, besides an early diagnosis, development of new materials to control early caries progression. The objective of this in vitro study was to evaluate the degree of penetration of three adhesives: Excite (Ivoclar-Vivadent), Prime & Bond NT (Dentsply), and Single Bond (3M-ESPE), in the process of sealing white-spot non-cavitated proximal lesions. **Methods:** 117 extracted human premolars with ICDAS 2 white-spot non-cavitated proximal lesions mounted on plaster, to simulate oral cavity conditions, were randomly sorted out in each of the three groups. The lesions were sealed with each of the materials previously mixed with methylene blue; longitudinal sections of 250 μm were obtained, and they were later analyzed on photographs taken with a stereo microscope. These variables were evaluated: total lesion coating, lesion's histologic depth (in micrometers), and the adhesive's maximum penetration. **Results:** a total of 116 teeth were analyzed. Entire lesion coating was found in 52.5% of the cases; 75% were located in the enamel's internal half, with an average depth of $854 \pm 493 \mu\text{m}$. The adhesive's maximum average lesion penetration was $697 \pm 412 \mu\text{m}$. No statistical significant differences were found among the groups (Kruskal Wallis and Spearman correlation; $p > 0.05$). **Conclusion:** these three low-viscosity adhesives with high amounts of TEGDMA and HEMA effectively achieved covering and penetrating of the material for sealing early proximal carious lesions.

Key words: white-spot lesions, dental caries, adhesive dental coating

Zarta OL, Zuluaga AL, Huertas MC, Lara JS, Quintero IK, Téllez M et al. Penetration of three adhesives in proximal white-spot carious lesions: An in vitro study. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2012; 24(1): 84-95.

INTRODUCCIÓN

La caries dental se define como un desequilibrio entre la estructura dental y el fluido de la placa circundante, que desencadena en la pérdida de minerales y puede llevar a la pérdida de estructura dental.^{1,2} La caries interproximal se presenta del punto de contacto interdental en dirección al margen gingival, sitio de fácil retención para la biopelícula y de difícil acceso para su remoción mecánica.³

Las lesiones de caries en superficies interproximales representan un problema, tanto en países industrializados, como en vía de desarrollo.^{4,5} El reto clínico, entonces, es detectar este tipo de lesiones en sus estadios iniciales y tratarlas de manera no operatoria o preventivamente, para así evitar su progreso en severidad a una cavidad que haga necesario el tratamiento operatorio.⁶

Gracias a los principios de la odontología moderna y, más puntualmente a la cariólogía, hoy se aceptan los tratamientos mínimamente invasivos y el uso de materiales restauradores adhesivos, con los cuales se busca la protección de la mayor cantidad de estructura dental posible, la detención de las lesiones y la viabilidad de la limpieza dental.² El concepto de odontología de mínima intervención incluye cinco principios generales: 1) el diagnóstico de caries inicial científicamente orientado, usando medios diagnósticos adecuados;

INTRODUCTION

Dental caries is defined as an imbalance of dental structure and surrounding plaque fluid, which triggers mineral loss and may produce dental structure loss.^{1,2} Proximal caries occurs from the interdental contact point towards the gingival margin, a spot that easily retains biofilm and which is hard to access for mechanical plaque removal.³

Cariou lesions on proximal surfaces are challenging to both industrialized and developing countries.^{4,5} It is therefore necessary to detect these lesions in their initial stages, in order to avoid their progression, by means of preventive therapies and therefore preventing surgical treatment.⁶

Thanks to modern dentistry principles—specifically cariology—minimally invasive treatments are now available, as well as adhesive restoring materials which protect the maximum possible amount of dental structure, stop progression of the lesions, and allow easy dental cleansing.² The concept of minimal intervention dentistry involves five general principles: 1) initial scientific diagnosis, by means of suitable diagnostic methods;

2) el control de la enfermedad por medio de la educación al paciente y la reducción de la biopelícula; 3) la remineralización de las lesiones tempranas; 4) la mínima intervención operatoria y 5) el favorecimiento de la reparación frente al reemplazo de restauraciones defectuosas.^{6,7}

En los últimos años, con el objetivo de ocluir las lesiones iniciales de caries en el esmalte dental, se ha propuesto un enfoque de manejo conservador mediante la detención, el control y el monitoreo de la mismas, utilizando para tal fin, técnicas y materiales como sellantes,⁸ adhesivos,⁹ parches con adhesivo¹⁰ y más recientemente, infiltrantes.^{11,12} A la fecha, tanto el sellado como el infiltrado de las lesiones interproximales, han mostrado eficacia clínica después de más de 18 meses de uso.^{9,11,12} Aún se desconoce el material dental más efectivo y menos sensible a la técnica de aplicación en el control del progreso de las lesiones tempranas de caries.

Para el sellado de lesiones interproximales de caries el uso de los adhesivos muestra mayores ventajas que el de los sellantes de fosas y fisuras,¹³ por poseer baja viscosidad, mayor facilidad para acceder a la zona interproximal, menor sensibilidad a la técnica y mayor retención.¹⁴ La obturación de los poros desmineralizados del esmalte constituye un tema emergente de investigación, sustentado por estudios que muestran la penetración del material dentro de la lesión, favoreciendo la detención de su progreso.¹⁵⁻¹⁸

El propósito de este estudio fue evaluar *in vitro* la penetración de tres sistemas adhesivos: Excite (Ivoclar Vivadent), Prime & Bond NT (Dentsply) y Single Bond (3M ESPE) en el sellado de lesiones naturales de caries interproximal no cavitacional en dientes humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se hizo en la Universidad El Bosque, Bogotá. Para valorar el grado de penetración de los diferentes adhesivos dentro de la lesión se utilizó la metodología reportada por Martignon en 2005.¹³

Muestra

El estudio se planeó en dientes naturales extraídos (premolares) con presencia de lesión de caries interproximal de mancha blanca Icdas código 2 blancas.

2) disease control by educating patients and reducing biofilm; 3) re-mineralization of early lesions; 4) minimum surgical interventions; 5) favoring faulty restorations repair instead of replacing them.^{6,7}

With the purpose of restoring early enamel carious lesions, a conservative approach has been recently suggested consisting of arresting, controlling and monitoring lesions by means of techniques and materials such as sealants⁸ and adhesives,⁹ adhesive patches,¹⁰ and more recently, infiltrations.^{11,12} So far, both sealing and infiltrating proximal lesions have proven to be clinically effective after using them for more than 18 months.^{9,11,12} There is no consensus on the most effective and practical material to control progression of early carious lesions.

Sealing proximal carious lesions with adhesives has yielded greater benefits than fissure sealants¹³ because adhesives have lower viscosity, greater facility to reach the proximal region, lower technique sensibility, and more retention.¹⁴ Filling the enamel's demineralized pores is an emerging research field supported by studies that have verified these materials' effective penetration in carious lesions, thus preventing their progression.¹⁵⁻¹⁸

The purpose of this *in vitro* study was to evaluate the degree of penetration of three adhesives: Excite (Ivoclar-Vivadent), Prime & Bond NT (Dentsply), and Single Bond (3M), in the process of sealing natural lesions of non-cavitated proximal caries in human teeth.

MATERIALS AND METHODS

This study was conducted at Universidad El Bosque, Bogotá. In order to assess the three adhesives' degree of lesion penetration, the methodology reported by Martignon in 2005 was used.¹³

Sample

The study was performed on extracted natural (premolar) teeth with ICDAS type 2 white-spot proximal carious lesions.

Para establecer las proporciones que permitieran calcular el tamaño de muestra se hizo una prueba piloto con la técnica citada¹³ en nueve muestras, tres para cada sistema adhesivo: Excite (Ivoclar Vivadent), Prime & Bond NT (Dentsply) y Single Bond (3M ESPE), evaluándose estereomicroscópicamente la profundidad de penetración del material en proporción a la profundidad de la lesión. Se aplicó la fórmula de arcoseno para comparación de prueba de hipótesis de proporciones, con alfa de 0,05 y poder del 80%. Con base en lo anterior se determinó un tamaño muestral $n = 117$ lesiones, 39 en cada grupo.

Dos examinadores entrenados (ALZ, MCH) recolectaron 420 premolares humanos extraídos por indicaciones ortodóncicas, provenientes de un banco de dientes almacenados en solución acuosa de timol. Un examinador calibrado en criterios visuales de diagnóstico de caries dental ICDAS (SM) examinó las muestras con ayuda de una sonda de punta redonda (WHO), seleccionando aquellas que presentaran lesiones interproximales de caries no cavitacional, con diagnóstico visual ICDAS-II 2 color blanco.¹⁹ Se excluyeron dientes que presentaran hipoplasias, fracturas, líneas de fractura, fluorosis y cualquier otro defecto del desarrollo del esmalte. Se tomaron fotografías de todas lesiones.

Preparación de la muestra

Los 117 dientes seleccionados se codificaron y se asignaron aleatoriamente, con una tabla de números aleatorios²⁰ a cada uno de los tres grupos de adhesivos: 1) Excite (Ivoclar Vivadent) (E), 2) Prime & Bond NT (Dentsply) (PB), 3) Single Bond (3M ESPE) (SB). Los dientes se retiraron temporalmente del medio de conservación y se hicieron tres marcaciones con tinta indeleble en la superficie oclusal, determinando los límites vestibular y lingual/palatino de la lesión interproximal, dejando una guía para el posterior corte de las secciones longitudinales. Luego se montaron en bloques de yeso, imitando la situación en boca, representando su ubicación en el hueso alveolar, con la corona libre. Para simular el espacio interproximal logrado después de dos días de utilización de separadores ortodóncicos durante el procedimiento de sellado de una lesión interproximal en la clínica,⁸ se ubicó un diente vecino a una distancia equivalente a la anchura de un palillo de madera (0,8 mm de diámetro).¹³

In order to establish the proportions for calculating sample size, a pilot test was conducted with the aforementioned technique¹³ in nine samples, three for each of the adhesives: Excite (Ivoclar Vivadent), Prime & Bond NT (Dentsply) y Single Bond (3M ESPE), with subsequent stereomicroscope evaluation of the material's penetration depth in proportion to lesion depth. The arcsine formula was applied in order to compare the test of proportion hypothesis, with 0.05 alpha and 80% power. This produced a total sample of $n = 117$ lesions, that is, 39 per group.

Two trained examiners (ALZ, MCH) collected 420 human premolar teeth extracted for orthodontic purposes, from a stock of teeth stored in timol aqueous solution. An examiner who was previously calibrated on ICDAS dental caries visual diagnosis criteria (SM) examined the samples with the aid of a ball-ended probe (WHO), selecting the ones that presented non-cavitated proximal carious lesions, with a visual diagnosis of ICDAS 2, white spot lesion.¹⁹ Exclusion criteria included teeth with hypoplasia, fractures, fracture lines, fluorosis, and any other enamel development defect. Photographs of all the lesions were taken.

Sample preparation

The 117 selected teeth were coded and randomly allocated into each of the three groups, by means of a random number table:²⁰ 1) Excite (Ivoclar Vivadent) (E), 2) Prime & Bond NT (Dentsply) (PB), 3) Single Bond (3M ESPE) (SB). The teeth were temporarily removed from their conservation solution and three marks were drawn on their occlusal surfaces with indelible ink in order to delineate the proximal lesions' buccal and lingual/palatal borders, thus leaving a guide for the subsequent longitudinal sections. They were later mounted on plaster casts imitating their location inside the mouth and on the alveolar bone, leaving the crowns free. In order to imitate the proximal gap achieved after several days of using orthodontic separators while sealing an proximal lesion in clinical conditions,⁸ a neighboring tooth was located at a distance equivalent to the width of a toothpick (0.8 mm in diameter).¹³

Posterior al montaje, la muestra se sumergió nuevamente en solución de timol hasta el momento de la realización del sellado.

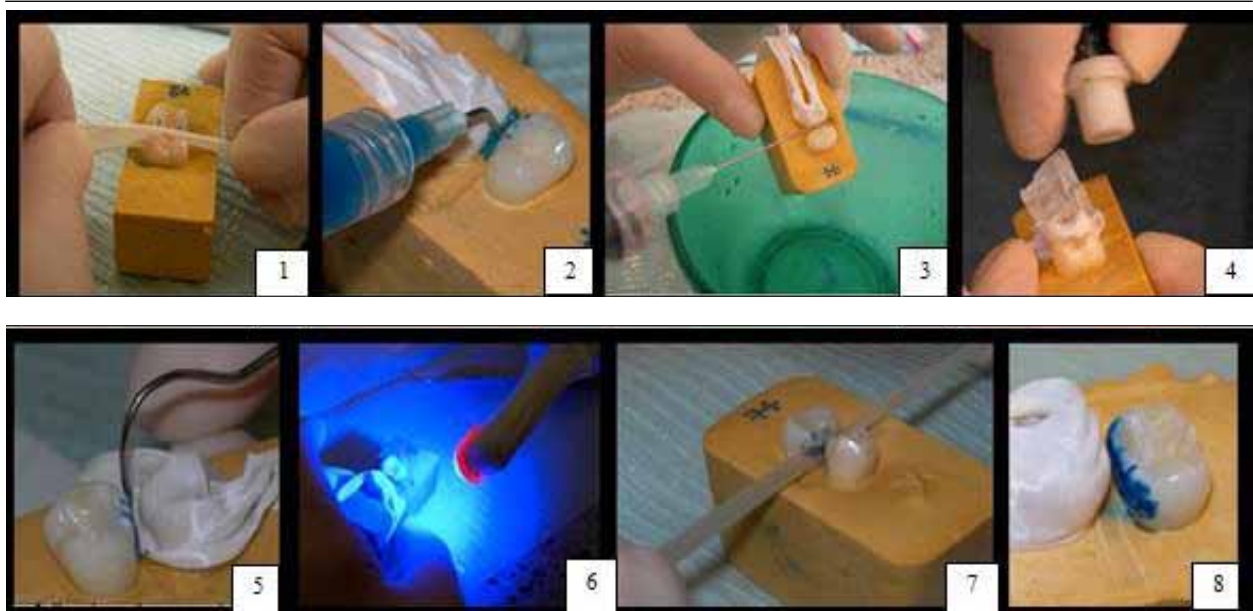
Sellado de las lesiones

Cada uno de los adhesivos se mezcló previamente con azul de metileno 5% en etanol 100%, tinción utilizada para coloraciones *in vitro*. Dos gotas de cada adhesivo se mezclaron con una gota de la tinción. Para cada lesión interproximal uno de los autores (OLZ), previamente entrenado, hizo el siguiente procedimiento (figura 1):¹³

Afterwards, the samples were submerged again in timol solution until the time of the sealing procedure.

Lesion sealing

Each adhesive was previously mixed with 5% methylene blue in 100% ethanol—a staining used for *in vitro* coloring—. Two drops of each adhesive were mixed with a drop of staining. Once one of the authors (OLZ) was trained, she performed this procedure on each proximal lesion (figure 1):¹³



1. Aislamiento con cinta de teflón, 2. Grabado ácido con ácido fosfórico (37%, 15 s), 3. Lavado con agua, 4. Secado con aire, 5. Aplicación del adhesivo con explorador y seda dental, 6. Fotocurado, 7. Pulido con lija de poliéster, 8. Apariencia final.

1. Isolating with a Teflon tape, 2. Etching with phosphoric acid (37%, 15 s), 3. Rinsing with water, 4. Air-drying, 5. Applying the adhesive with a micro-brush, a probe and dental floss, 6. Photocuring, 7. Polishing with polyester sandpaper, 8. Final appearance.

Figura 1. Técnica de sellado utilizada, descrita por Martignon y colaboradores (2005)¹³

Figure 1. Sealing technique used, as described by Martignon et al (2005)¹³

1. Limpieza del diente que se va a sellar con crema dental convencional y cepillo profiláctico.
2. Aislamiento del diente adyacente con cinta de teflón.
3. Previo secado, grabado de la superficie de la lesión interproximal con ácido fosfórico a 37% durante 15 s.

1. Cleansing the tooth to be sealed, with conventional toothpaste and a prophylactic brush.
2. Isolating of the adjacent tooth with a nonstick (Teflon) tape.
3. Previously dried, the proximal surface was etched with 37% phosphoric acid for 15 s.

4. Lavado con agua por 30 s y secado sin deshidratar el diente.
5. Recambio de la cinta de teflón.
6. Previo secado, aplicación del adhesivo (mezclado con azul de metileno) en la lesión con microcepillo, explorador y seda dental, para acceder a la lesión y para retirar excesos.
7. Aireado suave.
8. Fotopolimerización del adhesivo, según recomendaciones del fabricante.
9. Pulido de la superficie sellada con lija de poliéster.

Cortes histológicos

Después del sellado, las muestras se retiraron del bloque de yeso y se introdujeron en frascos precodificados. Se obtuvieron secciones longitudinales de 250 μm usando el micrótopo (Isomet, Buehler) de baja velocidad a 500 rpm, teniendo como referencia las marcaciones para incluir en cada caso la lesión interproximal. Los cortes se hicieron en el laboratorio del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Análisis de cortes histológicos

Cada sección obtenida de tejido dental se posicionó en el estereomicroscopio (60 ampliaciones) con cámara digital incorporada. Se tomaron fotografías de los cortes y se archivaron de forma independiente en el computador para su posterior análisis. Los siguientes aspectos se valoraron en cada sección (figura 2):

1. Cubrimiento total de la lesión por el adhesivo: sí; no.
2. Profundidad histológica de la lesión: $\frac{1}{2}$ externa del esmalte; $\frac{1}{2}$ interna del esmalte; unión amelodentinal-UAD, $\frac{1}{3}$ externo de dentina.
3. Profundidad de la lesión en μm .
4. Penetración máxima (profundidad) del adhesivo en la lesión en μm .

4. Rinsing with water for 30 s and drying without dehydrating the tooth.
5. Replacing the Teflon tape.
6. Once dried, applying the adhesive (mixed with methylene blue) on the lesion with a micro-brush, a probe, and dental floss in order to reach the lesion and to remove remains.
7. Gentle air drying.
8. Photo-polymerization of the adhesive, according to the manufacturer's instructions.
9. Polishing the sealed surface with polyester sandpaper.

Histological sections

After sealing, the samples were removed from the plaster casts and introduced in bottles that had been previously coded. Longitudinal sections of 250 μm were obtained by means of a microtome (Isomet, Buehler) of lower speed at 500 rpm, having the markings as a reference to include the interproximal lesion in each case. Sectioning was performed at Universidad Nacional de Colombia's Research and Technical Development Laboratory, Bogotá.

Analysis of histological sections

Each dental tissue section was placed at the stereomicroscope (60 amplifications) with an incorporated digital camera. Photos of the sections were taken and filed independently in a computer for subsequent analysis. These aspects were analyzed on each section (figure 2):

1. Lesion entirely covered with the adhesive: yes; no.
2. Lesion's histological depth: external enamel half; internal enamel half; enamel cement junction-ACJ- external dentine third.
3. Lesion depth in μm .
4. Maximum penetration (depth) of adhesive in the lesion (in μm).

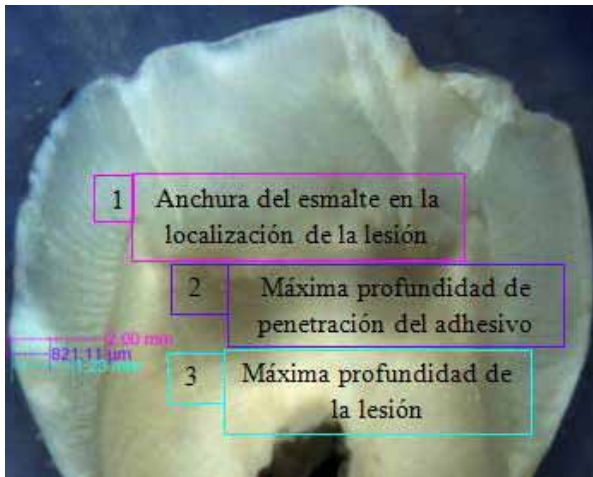


Figura 2. Sección longitudinal que muestra la lesión y las diferentes mediciones

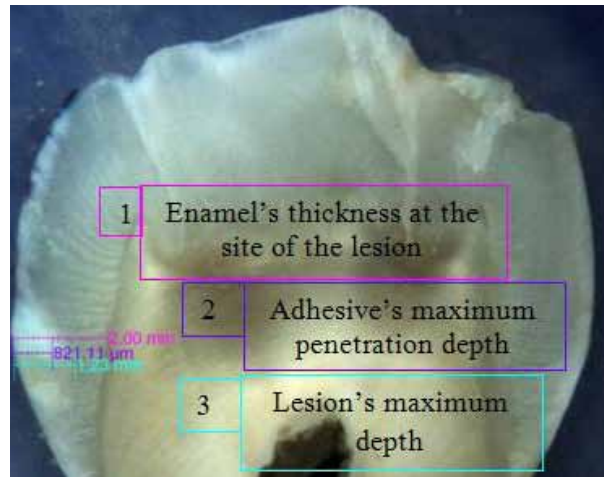


Figure 2. Longitudinal section showing both the lesion and the measurements

En las fotografías se valoró el cubrimiento de la lesión por material resinoso (criterio 1) y la profundidad histológica de las lesiones por zona (criterio 2). Los demás criterios se evaluaron con el *software* Dpx View Pro EE EF[®], previa marcación de los siguientes puntos de referencia: —sitio externo en la superficie del esmalte correspondiente al punto medio de la lesión, —punto más profundo de la lesión interproximal— sitio más profundo de penetración del material marcado con la tinción. El *software* calculaba la profundidad de la lesión en μm (criterio 3) y la máxima penetración del adhesivo en μm (criterio 4).

Estas valoraciones fueron hechas por dos examinadores (JSL, IQ), previamente entrenados y calibrados por un experto (valoración interreproducibilidad Kappa = 0,81) en el Departamento de Cariología y Endodoncia de la Universidad de Copenhague, Dinamarca. Los datos obtenidos fueron registrados directamente en una base de datos de Excel.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva (MT). Se hicieron pruebas de H. Kruskal-Wallis para ver diferencias de penetración entre los tres grupos de adhesivos.

Cuando se encontraron diferencias se utilizó el test no paramétrico Mann-Whitney. Adicionalmente, se utilizó la prueba de correlación de Spearman para establecer correlación entre la penetración de los adhesivos y la profundidad de las lesiones.

The photographs allowed observing the lesion's coating with resinous material (criterion 1) as well as the lesion's histological depth per zone (criterion 2). The remaining criteria were evaluated by means of the Dpx View Pro EE EF *software*[®], once these points of reference had been marked: external site at the enamel surface corresponding to the lesion's midpoint, the proximal lesion's deepest part, and deepest penetration site of the material marked with the staining. The *software* calculated lesion's depth in μm (criterion 3), and maximum adhesive penetration in μm (criterion 4). These calculations were performed by two examiners (JSL, IQ), who had been previously trained and calibrated by an expert (Kappa inter-rater reliability = 0.81) at the Department of Cariology and Endodontics of Copenhagen University, Denmark. The obtained data were directly registered in an Excel database.

Statistical analysis

The results were analyzed by means of descriptive statistics (MT). H. Kruskal-Wallis tests were performed in order to identify penetration differences among the three adhesive groups.

Whenever differences appeared, the non-parametric Mann-Whitney test was applied. Moreover, Spearman's correlation test was used to establish correlation between adhesive penetration and lesion depth.

RESULTADOS

El total de la muestra para análisis fue de 116 dientes con lesiones interproximales selladas, distribuidos en tres grupos así: PB: n = 39, E: n = 39 y SB: n = 38; uno de los dientes que hacía parte de la muestra se perdió durante el proceso de corte.

Cubrimiento de la lesión por el adhesivo

En el 52,5% de los dientes sellados el adhesivo cubrió la totalidad de la lesión, con porcentajes según grupo de 66,7% (E), 43,6% (PB) y 47,4% (SB), sin diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p > 0,05$).

Profundidad histológica de las lesiones

El análisis de la profundidad histológica de las lesiones interproximales mostró que la mayoría (75%) se ubicó en la mitad interna del esmalte, siguiendo la misma tendencia para cada grupo (tabla 1). Alrededor de 1/5 de las lesiones (19%) estaba ubicada en la mitad externa del esmalte y solo el 6% en dentina.

Profundidad de la lesión en micrómetros

La tabla 2 muestra la profundidad promedio de las lesiones en μm ($854 \pm 493 \mu\text{m}$) y los promedios por grupo de $761 \pm 415 \mu\text{m}$ (SB), $889,5 \pm 499,5 \mu\text{m}$ (E) y $911 \pm 308,5 \mu\text{m}$ (PB) y, la correlación entre grupos, sin diferencias significativas encontradas ($p > 0,05$).

RESULTS

In total, the sample comprised 116 teeth with proximal sealed lesions, distributed in three groups, like this: PB: n = 39, E: n = 39 and SB: n = 38; one tooth from the sample was lost during the sectioning process.

Amount of lesion coating

In 52.5% of the sealed teeth, the adhesive covered the whole lesion, with these percentages by group: 66.7% (E), 43.6% (PB), and 47.4% (SB), with no statistically significant differences among the groups ($p > 0.05$).

Lesion histological depth

The analysis of interproximal lesions histological depth revealed that most of them (75%) were located in the enamel inner half—and each group experienced the same tendency— (table 1). Nearly 1/5 of the lesions (19%) were located in the enamel outer half, and only 6% in the dentine.

Lesion depth in micrometers

Table 2 shows the lesions average depth in μm ($854 \pm 493 \mu\text{m}$) and these averages per group: $761 \pm 415 \mu\text{m}$ (SB), $889.5 \pm 499.5 \mu\text{m}$ (E), and $911 \pm 308.5 \mu\text{m}$ (PB); correlation among the groups did not present significant differences ($p > 0.05$).

Tabla 1. Distribución de las lesiones por grupos según su profundidad histológica

Ubicación histológica	E Excite (Ivoclar Vivadent)		SB Single Bond (3M ESPE)		PB Prime & Bond NT (Dentsply)		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Mitad externa del esmalte	5	13	8	21	9	23	22	19
Mitad interna del esmalte	29	74	30	79	28	72	87	75
1/3 externo de la dentina	5	13	0	0	2	5	7	6
Total	39	100	38	100	39	100	116	100

Table 1. Lesions distribution per group according to histological depth

Histologic location	E Excite (Ivoclar Vivadent)		SB Single Bond (3M ESPE)		PB Prime & Bond NT (Dentsply)		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Enamel outer half	5	13	8	21	9	23	22	19
Enamel inner half	29	74	30	79	28	72	87	75
Dentine outer third	5	13	0	0	2	5	7	6
Total	39	100	38	100	39	100	116	100

Penetración máxima (profundidad) del adhesivo en la lesión en micrómetros

La máxima penetración promedio del adhesivo en la lesión fue de $697 \pm 412 \mu\text{m}$, con valores promedio según grupo de $612,5 \pm 354 \mu\text{m}$ (SB), $693,3 \pm 471,6 \mu\text{m}$ (PB) y $786 \pm 393,5 \mu\text{m}$ (E), sin diferencias significativas entre los grupos ($p > 0,05$).

Maximum penetration (depth) of adhesives in lesions (in μm)

The maximum average of adhesive penetration in the lesion was $697 \pm 412 \mu\text{m}$, with these average values per group: $612.5 \pm 354 \mu\text{m}$ (SB), $693.3 \pm 471.6 \mu\text{m}$ (PB), and $786 \pm 393.5 \mu\text{m}$ (E), and no significant differences among the groups ($p > 0.05$).

Tabla 2. Correlación entre profundidad de la lesión y máxima penetración del adhesivo

Característica	Profundidad de la lesión (μm)	Máxima penetración del adhesivo (μm)	Penetración (%)	Valor P	Coefficiente de correlación
Adhesivo					
Excite	$889,5 \pm 499,5$	$786,0 \pm 393,5$	88,4	$< 0,0001$	0,66
Prime Bond	$911,0 \pm 308,5$	$693,3 \pm 471,6$	76,1	$< 0,0001$	0,67
Single Bond	$761,0 \pm 415,0$	$612,5 \pm 354,0$	80,5	$< 0,0001$	0,58

Table 2. Correlation between lesion depth and adhesive maximum penetration

Characteristic	Lesion depth (μm)	Maximum adhesive penetration (μm)	Penetration (%)	P value	Coefficient of correlation
Adhesive					
Excite	889.5 ± 499.5	786.0 ± 393.5	88.4	< 0.0001	0.66
Prime Bond	911.0 ± 308.5	693.3 ± 471.6	76.1	< 0.0001	0.67
Single Bond	761.0 ± 415.0	612.5 ± 354.0	80.5	< 0.0001	0.58

DISCUSIÓN

En este estudio se encontró que los adhesivos utilizados fueron capaces de sellar y penetrar las lesiones interproximales de mancha blanca. En 1975, Dávila y colaboradores¹⁵ reportaron que los adhesivos de bajo peso molecular podían fluir a través de las lesiones y rellenar parcial o completamente los microespacios. En estudios *in vitro* en lesiones artificiales de caries, Robinson y colaboradores (2001)¹⁶ y Gray y colaborador (2002)¹⁷ mostraron la efectividad de un material con el cual se logró sellar y además, obturar parcialmente los espacios intercristalinos desmineralizados de lesiones artificiales.

En este estudio se decidió utilizar adhesivos, debido a que tienen mayor capacidad de retención que los sellantes¹⁴ y, a que *in vitro* en un estudio piloto mostraron sellar y penetrar las lesiones mejor que los sellantes.¹³

El sellado de lesiones interproximales de caries de mancha blanca con tres adhesivos dentinales, arrojó una penetración cercana al 80% de la profundidad de la lesión, similar en los tres grupos.

DISCUSSION

This study showed that the three adhesives were able to seal and penetrate white-spot proximal lesions. In 1975, Dávila et al¹⁵ reported that low molecular weight adhesives may flow through carious lesions and partially or entirely fill the microspaces. In vitro studies on artificial carious lesions carried out by Robinson et al (2001)¹⁶ and Gray et al (2001)¹⁷ demonstrated the effectiveness of a material that successfully allowed sealing and partially filling the demineralized intercrystal gaps of artificial lesions.

We decided to use adhesives in our study because they have a greater capacity to retain sealants,¹⁴ and because in an *in vitro* pilot study they proved to be more efficient for sealing and penetrating lesions.¹³

Sealing white-spot proximal carious lesions with three dentinal adhesives yielded a penetration degree close to 80% of lesion depth—similar among the three groups—.

Paris y colaboradores (2007),¹⁸ estudiaron la capacidad de penetración de cinco adhesivos dentinales y selladores de fosas y fisuras también comercialmente disponibles, en lesiones iniciales artificiales en esmalte de bovinos, encontrando mayor coeficiente de penetración en los materiales con etanol (20%) como vehículo, además de TEGDMA y HEMA, lo que se correlaciona con los componentes de los adhesivos utilizados en este estudio.

La efectividad del material sellador depende de su capacidad de penetración, de su resistencia al desgaste, de la técnica y de la insolubilidad en el medio oral.^{6, 17} Histológicamente, la zona superficial de las lesiones no cavitadas del esmalte tiene un volumen poroso que oscila entre 1 y 5%, es decir, de 10 a 50 veces mayor que el del esmalte sano.²¹ Goepferd y Olberding en 1989 reportaron la presencia de tags de resina después de sellar lesiones de mancha blanca con un sellante sin relleno y no encontraron progresión de la lesión debajo del material; lo anterior se evaluó mediante microscopía de luz polarizada.²²

En este estudio, para evaluar la penetración del material en la lesión se adicionó tinción de azul de metileno para la posterior valoración estereomicroscópica de la penetración de material en los cortes histológicos. Tyler y colaboradores utilizaron esta técnica, mezclando tinción azul de metileno al 1% en 100% de etanol con un adhesivo determinado, buscando evaluar estereomicroscópicamente, después de hacer hemisección de los dientes y de tomar fotografías, el desplazamiento del adhesivo dentinal aplicado debajo de obturaciones en amalgama, con la condensación de las mismas. De acuerdo con los autores, la inclusión del azul de metileno en el material permite su observación visual y fotográfica, sin producirle alteraciones fisicoquímicas.²³ En este estudio, se utilizó azul de metileno 5% en etanol absoluto, como se hizo en el estudio reportado por Martignon y colaboradores¹³ sobre el mismo tema, después de probar diferentes pigmentos. La preparación del adhesivo con la tinción se hizo como Tyler y colaboradores lo refieren.²³ Sin embargo, pueden presentarse cambios en la viscosidad y tensión superficial del adhesivo, aspectos que deben valorarse.

Los resultados arrojados por un estudio hecho por Martignon en 2006,⁹ en el que se valoraba la eficacia del sellado de lesiones interproximales en pacientes adultos, fueron positivos.

Paris et al (2007)¹⁸ analyzed the penetration capacity of five dental adhesives and fissure sealants available in the market on artificial early lesions of bovine enamel, finding out a greater penetration coefficient in the materials containing ethanol (20%) as agent, as well as TEGDMA and HEMA, which matches the components of the adhesives used in the present study.

The effectiveness of a sealant depends on its penetration capacity, its wear resistance, the technique used, and its insolubility in the oral environment.^{6, 17} Histologically, the surface of non-cavitated enamel lesions has a porous volume that ranges between 1 to 5%, that is, 10 to 15 times greater than a healthy enamel.²¹ In 1989, Goepferd and Olberding reported the presence of resin tags after sealing white-spot lesions with a unfilled sealant, finding out lesion progression underneath the material. They used polarized light microscopy for their study.²²

In the present study, in order to evaluate the adhesives' lesion penetration capacity, methylene blue staining was used before assessing the substance penetration in histological sections by means of a stereomicroscope. Tyler et al used this technique by mixing 1% methylene blue staining in 100% ethanol with a given adhesive, seeking to evaluate, after hemisecting the teeth and taking photographs, the displacement of dental adhesive applied underneath amalgam fillings, as they were condensed. According to these authors, mixing methylene blue with the substance enables visual and photographic observations without producing physicochemical alterations.²³ In the present study, we used 5% methylene blue in absolute ethanol, just as suggested by Martignon et al¹³ in a study on the same topic after trying different dyes. The adhesive/staining solution was prepared as suggested by Tyler et al.²³ Nevertheless, some changes in terms of the adhesive's viscosity and surface tension may occur, so these aspects must be taken into account.

The results obtained by Martignon in 2006,⁹ in a study conducted with the intention of assessing the efficacy of sealing proximal lesions in adult patients were positive.

No obstante, el 43,5% de las lesiones progresó después de la valoración con substracción radiográfica. El procedimiento sellador, más que detener la lesión, reduce su tasa de progresión, como se sugiere en otros estudios *in vitro* en este campo²⁴ y en los estudios clínicos más recientes, con resultados prometedores, que han utilizado el sellado de lesiones interproximales de caries no cavitacional, también en dentición primaria²⁵ y los infiltrantes en dentición permanente¹¹ y primaria.¹²

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados encontrados en este estudio *in vitro* se puede concluir que:

- Adhesivos de baja viscosidad, con alto contenido de TEGDMA y HEMA, como los utilizados en este estudio, son efectivos en el sellado de lesiones tempranas de caries interproximal.
- No hay diferencias estadísticamente significativas en la profundidad de penetración entre los adhesivos Excite (Ivoclar Vivadent), Single Bond (3M ESPE) y Prime & Bond NT (Dentsply), al utilizarse como selladores de lesiones tempranas de caries proximal.
- Se recomienda ahondar a largo plazo en el comportamiento de estos materiales para el sellado/infiltrado de las lesiones.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al doctor Lars Björndal por su valiosa participación y orientación en el desarrollo de esta investigación.

CORRESPONDENCIA

Stefania Martignon
UNICA, Facultad de Odontología
Universidad El Bosque
Cra. 7B Bis N.º 132-11
Bogotá, Colombia
Teléfono: (57-1) 648 90 00. Ext. 1195
Fax: (57-1) 520 40 21
Correo electrónico: martignonstefania@unbosque.edu.co

Nevertheless, 43.5% of the lesions progressed after evaluation with radiographic subtraction. The sealing procedure, more rather than arresting the lesion, reduces its progression rate, as suggested by other *in vitro* studies on the field²⁴ and by the most recent clinical studies which have yielded promising results by sealing non-cavitated proximal carious lesions in primary dentition²⁵ and by using infiltrants in both permanent¹¹ and primary dentition.¹²

CONCLUSIONS

Based on the results of the present *in vitro* study, the following conclusions may be drawn:

Low viscosity adhesives with high contents of TEGDMA and HEMA such as the ones used in this study are effective for sealing early interproximal carious lesions.

No statistically significant differences occur in terms of penetration depth among these three adhesives: Excite (Ivoclar Vivadent), Single Bond (3M ESPE), and Prime & Bond NT (Dentsply) when used as sealants for early proximal carious lesions.

The authors recommend conducting further studies on the behavior of these lesion sealing/infiltrating materials.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Doctor Lars Björndal for his helpful participation and guidance in this study.

CORRESPONDING AUTHOR

Stefania Martignon
UNICA, Facultad de Odontología
Universidad El Bosque
Cra. 7B Bis N.º 132-11
Bogotá, Colombia
Phone number: (57-1) 648 90 00. Ext. 1195
Fax number: (57-1) 520 40 21
Email address: martignonstefania@unbosque.edu.co

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Pitts NB, Stamm JW. International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT) Final consensus statements: agreeing where the evidence leads. *J Dent Res* 2004; 83 (Spec Iss C): C125-C128.
2. Thylstrup A, Fejerskov O. Clinical and pathological features of dental caries. En: Thylstrup A, Fejerskov O. Textbook of clinical cariology. 2.^a ed. Copenhagen: Munksgaard; 1994; p. 111-158.
3. Bjørndal L, Thylstrup A. A structural analysis of approximal enamel caries lesions and subjacent dentin reactions. *Eur J Oral Sci* 1995; 103: 25-31.
4. Martignon S, Chavarría N, Ekstrand KR. Caries status and proximal lesion behaviour during a 6-year period in young adult Danes: an epidemiological investigation. *Clin Oral Investig* 2010; 14: 383-390.
5. Mejare I, Kallestal C, Stenlud H. Incidence and progression of approximal caries from 11 to 22 years of age in Sweden: a prospective radiographic study. *Caries Res* 1999; 33: 93-100.
6. Kielbassa AM, Muller J, Gernhardt CR. Closing the gap between oral hygiene and minimally invasive dentistry: a review on the resin infiltration technique of incipient (proximal) enamel lesions. *Quintessence Int* 2009; 40: 663-681.
7. Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry: a review. FDI Commision Project 1-97. *Int Dent J* 2000; 50: 1-12.
8. Gomez SS, Basili CP, Emilson CG. A 2-year clinical evaluation of sealed noncavitated approximal posterior carious lesions in adolescents. *Clin Oral Investig* 2005; 9: 239-243.
9. Martignon S, Ekstrand KR, Ellwood R. Efficacy of sealing proximal early active lesions: An 18-month clinical study evaluated by conventional and subtraction radiography. *Caries Res* 2006; 40: 382-388.
10. Alkilzy M, Berndt C, Meller C, Schidlowski M, Splieth C. Sealing of proximal surfaces with polyurethane tape: a two.-year clinical and radiographic feasibility study. *J Adhes Dent* 2009; 11: 91-94.
11. Paris S, Hopfenmuller W, Meyer-Lueckel H. Resin infiltration of caries lesions: an efficacy randomized trial. *J Dent Res* 2010; 89: 823-826.
12. Ekstrand KR, Bakhshandeh A, Martignon S. Treatment of proximal superficial caries lesions on primary molar teeth with resin infiltration and fluoride varnish versus fluoride varnish only: efficacy after 1 year. *Caries Res* 2010; 44: 41-46.
13. Martignon, S. Approximal caries: prevalence and progression rate in young Danish adults and an innovative non-operative approach for lesions around the EDJ [Monografía Ph. D. Caries] Copenhagen: Universidad de Copenhagen; 2005.
14. Feigal RJ, Musherure P, Gillespie B, Levy-Polack M, Quelhas I, Hebling J. Improve sealant retention with bonding agents: A clinical study of two-bottle and single-bottle systems. *J Dent Res* 2000; 79: 1850-1856.
15. Davila JM, Buonocore MG, Greeley CB, Provenza DV. Adhesive penetration in human artificial and natural white spots. *J Dent Res* 1975; 54: 999-1008.
16. Robinson C, Brookers SJ, Kiskham J, Word SR, Shore RC. *In vitro* studies of the penetration of adhesive resins into artificial caries-like lesions. *Caries Res* 2001; 35: 136-141.
17. Gray GB, Shellis P. Infiltration of resin into white spot caries-like lesions of enamel: an *in-vitro* study. *Eur J Prosthodont Restor Dent* 2002; 10: 27-32.
18. Paris S, Meyer-Lueckel H, Colfen H, Kielbassa AM. Penetration coefficients of commercially available and experimental composites intended to infiltrate enamel carious lesions. *Dental Materials* 2007; 23: 742-748.
19. Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, Pitts NB. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2007; 35: 170-178.
20. Kramer MS. Clinical Epidemiology and Biostatistics. A primer for clinical investigators and decision-makers. Alemania: Springer-Verlag; 1988. p. 273.
21. Silverstone LM. Structure of carious enamel including the early lesion. En: Melcher AH, Zarb GA. Dental enamel. Development structure and caries. *Oral Sci Rev*. Copenhagen: Munksgaard; 1973. p. 100-160.
22. Goepferd SJ, Olberding P. The effect of sealing white spot lesions on lesion progression *in vitro*. *Pediatr Dent* 1989; 11: 14-16.
23. Tyler DW, Thurmeier J. Amalgam bonding: visualization and clinical implications of adhesive displacement during amalgam condensation. *Oper Dent* 2001; 26: 81-86.
24. Meyer-Lueckel H, Paris S: Improved resin infiltration of natural caries lesions. *J Dent Res* 2008; 87: 1112-1116.
25. Martignon S, Tellez M, Santamaría RM, Gomez J, Ekstrand KR. Sealing distal proximal caries lesions in first primary molars: efficacy after 2.5 years. *Caries Res*. 2010; 44: 562-570.