译文

自酸蚀粘结系统的使用方法对牙本质粘结强度的影响

Influence of Application Methods of Self-etching Adhesive Systems on Adhesive Bond Strength to Dentin

Patrícia Rondon Pleffken, Ana Paula de Almeida Lourenso, Carlos Rocha Gomes Torres, Alessandra Bühler Borges

原载 J Adhes Dent, 2011, 13(6): 517–525.（英文）

张彩霞 译 李 煌 审

摘 要

目的：评价自酸蚀粘结系统中不同的使用方法对牙本质粘结强度的影响。**材料与方法**：将 255 颗拔出的牛牙颊面进行研磨以暴露出平坦的牙本质表面，再将牙齿分成 4 个实验组，使用 4 种自酸蚀粘结系统，分别为 One Up Bond F Plus，Clearfil SE Bond，Xeno Ⅲ，以及 FuturaBond NR，对照组为传统的酸蚀冲洗粘结系统 Adper Single Bond 2。所有实验组均主动或被动地使用一或两层的自酸蚀粘结剂，再将复合树脂粘结至牙本质，24h 后在一个万能试验机上以 1mm/min 的速度对试样进行剪切测试。对得到的数据进行双因素方差分析，Dunnett 以及 Tukey 检验（5%）。**结果**：不同的粘结剂类型、使用方法以及相互作用等因素间均有显著性的差异。所有粘结系统均表现出显著差异，主动使用两层自酸蚀粘结剂产生的平均粘结强度要明显高于被动使用的。**结论**：主动使用自酸蚀粘结剂能有效增加牙本质的剪切粘结强度，而且不同的使用方法对粘结的影响取决于所测试的粘结剂类型。

关键词 自酸蚀粘结；粘结强度；牙本质

1 引言

简化临床技术操作一直是粘结剂研究人员和制造商的目标。为了缩短并简化粘结步骤，自酸蚀粘结系统应运而生，这种粘结系统努力消除传统酸蚀冲洗系统在临床使用时由于漂洗、干燥等一系列步骤可能造成的粘结失败。

然而，由于在自酸蚀粘结系统中含有弱酸，自酸蚀粘结的酸蚀能力倾向于逐步下降。尽管以往研究表明自酸蚀和酸蚀冲洗粘结系统具有相似的粘结强度值，但自酸蚀粘结系统产生的混合层很薄，有时甚至没有。

译者单位 南京大学医学院口腔医学系
江苏省南京市鼓楼区汉口路 22 号 210093

根据窝洞预备过程中所产生的污染层特性，自酸蚀粘结系统所产生的粘结强度会受到影响。当使用自酸蚀粘结系统时，污染层的厚度和密度是一个值得研究者考虑的问题，自酸蚀粘结系统必须有能力渗透穿过污染层而进入底层牙本质。之前的研究表明，当产生的污染层足够厚时，自酸蚀粘结系统的粘结强度会出现下降。

此外，由于可用的 H^+ 少，自酸蚀系统在产生足够的酸蚀前会很容易地被溶解在牙齿结构中的矿物成分中和。为了在预备过的牙本质上增加自酸蚀系统的酸蚀能力以及减少可能遇到的困难，制造商已经开发出具有较低的 pH，但具有更好酸蚀效果的粘结系统。

在粘结系统中，采用不同的使用方法也可以增强牙面底物的粘结强度。传统方法上，自酸蚀粘结系统不经搅动即可粘结于牙面底物上，但是这些系统也可以通过涂刷一种浸于自酸蚀引物的涂料或一种全粘结剂而主动用于牙面底物上。这样可以通过提高酸性单体与牙体组织的相互作用，分散酸蚀的副产物进入混合层，进而来提高粘结强度。

另一种可能的方法是在窝洞表面额外使用一层酸性单体，增加自酸蚀引物或全粘结剂与牙面底物相互作用的时间，提供大数量的 H^+ 使其与矿化无机物发生反应，但这种额外使用的酸性单体也可能会促进自酸蚀剂渗入牙本质，从而使之脱钙。

基于上述这些考虑，本研究的目的就是评价在自酸蚀粘结系统中不同的使用方法对牙本质粘结强度的影响。我们的科学假设是粘结剂的层数和是否搅拌对牙本质粘结强度没有任何影响。

2 材料和方法

将255颗牛切牙清洗，并储存在 −18℃ 蒸馏水中直至使用。用碳化硅磁盘将牙齿标本在距离釉牙骨质界3mm的位置沿垂直方向高速切断（图1a），将牙根丢弃，用拔髓针移除牙髓组织（图1b），再用大量蒸馏水冲洗髓腔，并用气枪吹干。

先用一个圆形的高速金刚砂车针携带大量的水喷雾来打磨牙齿的舌面，直至髓腔暴露；再用实用蜡充满髓腔以避免包埋基质的渗透。然后将牙齿包埋在自凝丙烯酸树脂中，暴露颊面使其与水平面平行（图1c）。再将牙髓腔打开，使其能通过厚弹簧钳来测量剩余牙本质的厚度（图1d）。然后使用湿的80号粒度的碳化硅纸打磨牙本质表面，使牙本质的标准化厚度为2mm。

在抛光机(Politriz DP 10, Struers; São Paulo, SP, Brazil)上用600目砂纸打磨牙本质表面30s。为了限制使用粘结剂的区域，我们将一个特殊的拥有标准的中央孔、直径3mm的模具放置在每个标本样品上（图1e）。

将所有样本随机分为4个试验组（每组60个牙齿）和1个对照组（每组15颗牙齿）。测试材料列于表1。

根据不同的使用方法，将所有试验组（除了对照组）分为4个亚组，每组各15个试样。

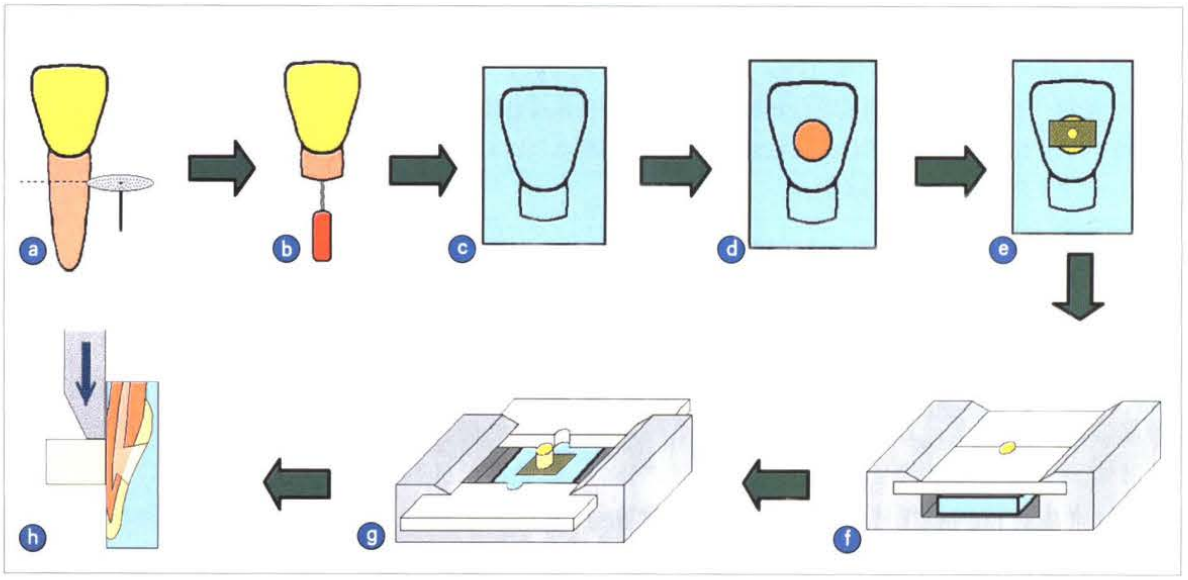

图1 试样准备示意图

表 1 所用材料的组成和制造商

产品	成分	制造商
One Up Bond F Plus	A 剂：MAC-10（丙二酸 10 甲基丙烯酸氧化癸胺）；甲基丙烯酸磷酸酯，bis-GMA，TEG-DMA，光聚合引发剂 B 剂：HEMA，水，铝玻璃微粉硅胶，光引发剂	德山齿科；东京，日本
Clearfil SE Bond	底漆：10-MDP，HEMA，亲水二甲基二樟脑，N，N-二乙醇胺 -P- 甲苯胺，水 粘结剂：10-MDP，bis-GMA，HEMA，疏水二甲基丙烯酸酯，N，N-二乙醇胺 - 甲苯胺，dl- 樟脑，硅烷化胶体二氧化硅	可乐丽；东京，日本
Xeno III	A 液：HEMA，超纯水，乙醇，二丁基羟基甲苯，高分散的二氧化硅 B 液：磷酸官能化的聚甲基丙烯酸酯树脂，二和多官能甲基丙烯酸酯树脂，丁基化羟基甲苯，樟脑醌，4 - 二甲基氨基乙基苯甲酸酯	登士柏；康斯坦茨，德国
FuturaBond NR	Bis-GMA，二甲基丙烯酸酯，甲基丙烯酸羟乙基酯，BHT，乙醇，有机酸，氟化物，硅酸盐填料 液体 A：甲烷基磷酸盐（磷酸单体）	VOCO；库克斯港，德国
Adper Single Bond Plus	Bis-GMA，HEMA，二甲基丙烯酸酯，乙醇，水，光引发剂的甲基丙烯酸酯官能的共聚物，聚丙烯酸，聚衣康酸和质量分数 10%的直径为 5nm 的球状二氧化硅粒子	3M ESPE；圣保罗，MN，USA
Scotchbond Etchant	35%的磷酸，二氧化硅	3M ESPE

（1）被动一层组（1P）——被动地使用 1 层粘结剂，按照说明书等待 20s，然后距离 10cm 轻吹（35 psi）5s 以助溶剂蒸发，再光固化 20s。

（2）被动两层组（2P）——第一层按照 1P 的方式施加，但不进行光照。按第一层相同的方式施加第二层后再光固化 20s。

（3）主动一层组（1A）——按说明书上建议的时间用小毛刷（Microbrush International；Orlando，FL，USA）做圆周运动涂布，即类似于 1P 组施加一层。然后距离 10cm 轻吹（35 psi）5s 以助溶剂蒸发，再光固化 20s。

（4）主动两层组（2A）——类似于亚组 1A 组先涂布一层但不进行光照。接着以类似于第一层的方式涂布第二层，轻吹和光固化。

在对照组中，根据制造商的说明使用传统的酸蚀冲洗粘结系统 Adper Single Bond 2（3M ESPE；St Paul，MN，USA）。

上述处理后，将样品放置在一个直径 3mm、高 4mm 的圆柱形的分割聚四氟乙烯模具的装置中（图 1f）。分两次充填复合树脂（FILTEKZ250，3M ESPE）至分割模具的开口中，每一次光固化 40s。固化后，除去分割模具，再从两侧光照复合材料各 40s（图 1g）。

存放在 37℃蒸馏水中 24h 后，将牙齿固定在万能试验机（EMIC；São José dos Pinhais，PR，Brazil）上一个特殊的装置中。在圆柱体基板上用 1mm 厚的刀刃以 1mm/min 速度来施加剪切力（图 1h）。

结果以 MPa 表示，并经 Dunnett 检验、双因素方差分析（ANOVA）和 Tukey 检验，5%表示有统计学差异有显著性。

2.1 失败分析

剪切测试后，用立体显微镜（Stemi 2000C，Carl Zeiss；Jena，Germany）以 20× 倍率分析牙本质断面以确定失败模式。将断裂模式分为 4 种：粘结失败，树脂内聚合失败，牙本质内聚合失败，混合失败。若分析区域 75% 以上的失败发生在粘结树脂和牙本质或复合树脂间，则定义为粘结失败；若粘结面积 75%以上的失败出现在复合树脂内或牙本质内，则定义为聚合失败；当失败的 25% ~ 75% 包括粘结和聚合，则被定义为混合失败。

2.2 扫描电子显微镜（SEM）分析

在试验各组另外准备 4 个试样供扫描电镜分析。按照上述的方法使用粘结系统，但不进行光固化。用丙酮冲洗试样 5s 以除去单体，然后将它们浸于 4℃的含 2.5%戊二醛的 0.1mol/L 二甲胂酸钠盐缓

冲液中12h，然后用20ml 0.2mol/L的二甲胂酸钠缓冲液在3个不同的浴杯中冲洗1h，再用蒸馏水冲洗1min。接着将牙齿在不同浓度梯度的乙醇中脱水（25%，20min；50%，20min；75%，20min；95%，30min；100%，60min），再转移到HMDS中作用10min完成脱水和胶原蛋白纤维的稳定，然后放置在一个封盖的玻璃小瓶中的滤纸上，在室温下干燥30min。最后将试样装在铝模具上，使用溅射装置(Desk Ⅱ，Denton Vacuum；Moorestown，NJ，USA)溅镀2min金，然后在扫描型电子显微镜(JSM 5310，JEOL；Tokyo，Japan)下观察。

3 结果

双因素方差分析的结果列于表2。当分析因素“粘结剂类型”和“使用方法”时，结果有显著性差异，而且它们之间有显著的相互作用（$P=0.0001$）。

表3列出了粘结剂因素的Tukey检验结果。所有测试的粘结系统间均有显著差异，Clearfil SE Bond平均值最高。对分析因素“使用方法”的Tukey检验结果列于表4，可以观察到主动使用两层组的平均值明显高于被动使用组。

表5显示的是将所有测试组与对照组比较的Dunnett检验的结果。One Up Bond F Plus和FuturaBond NR的粘结强度显著低于酸蚀冲洗粘结系统。被动使用一或两层Xeno Ⅲ的结果也显著低于对照组。

图2比较了不同类型的粘合剂和不同使用方法所得到的平均值。对于One Up Bond F Plus和FuturaBond NR组，不同的使用方法间并无显著性差异。对于Xeno Ⅲ，主动使用两层的平均粘结强度要显著高于其他方法。对于Clearfil SE Bond组，被动使用一层的粘结强度要显著低于其他的方法。

3.1 失败分析

对照组和OU组主要发生粘结失败，XE组主要发生混合失败。对于FB组，当主动或被动使用一层时主要发生粘结失败，当使用两层时主要发生混合失败。对于CL组，使用一层主要导致混合失败，当主动或被动使用两层时则以粘结失败为主(表6)。

表2 双因素方差分析结果（$P<0.05$）

因素	自由度	F	P
粘结剂类型	3	193.35	0.0001
使用方法	3	11.15	0.0001
粘结剂和方法相互作用	9	6.53	0.0001

表3 因素“粘结剂”的Tukey检验结果（$P<0.05$）

粘结剂	均值（±SD）	同类群*
One Up Bond F Plus	4.80（±1.95）	A
FuturaBond NR	6.03（±2.29）	B
Xeno Ⅲ	8.06（±3.66）	C
Clearfil SE Bond	15.11（±3.58）	D

* 相同的字母表示没有显著性差异

表4 因素“使用方法”的Tukey检验结果（$P<0.05$）

使用方法	均值（±SD）	同类群*
1P	7.26（±3.81）	A
2P	7.93（±5.23）	AB
1A	9.12（±4.61）	BC
2A	9.70（±5.75）	C

* 相同的字母表示没有显著性差异。1P：被动一层组；2P：被动两层组；1A：主动一层组；2A：主动两层组

表5 与对照组相比的Dunnett检验结果（$P<0.05$）

粘结剂／使用方法	P
Xeno Ⅲ /1P	0.02*
Xeno Ⅲ /1A	0.47
Xeno Ⅲ /2P	0.001*
Xeno Ⅲ /2A	0.99
One Up Bond F Plus/1P	0.001*
One Up Bond F Plus/1A	0.001*
One Up Bond F Plus/2P	0.001*
One Up Bond F Plus/2A	0.001*
Clearfil SE Bond/1P	0.99
Clearfil SE Bond/1A	0.99
Clearfil SE Bond/2P	0.99
Clearfil SE Bond/2A	0.99
FuturaBond NR/1P	0.001*
FuturaBond NR/1A	0.01*
FuturaBond NR/2P	0.02*
FuturaBond NR/2A	0.001*

* 指有显著差异。1P：被动一层；2P：被动两层；1A：主动一层；2A：主动两层

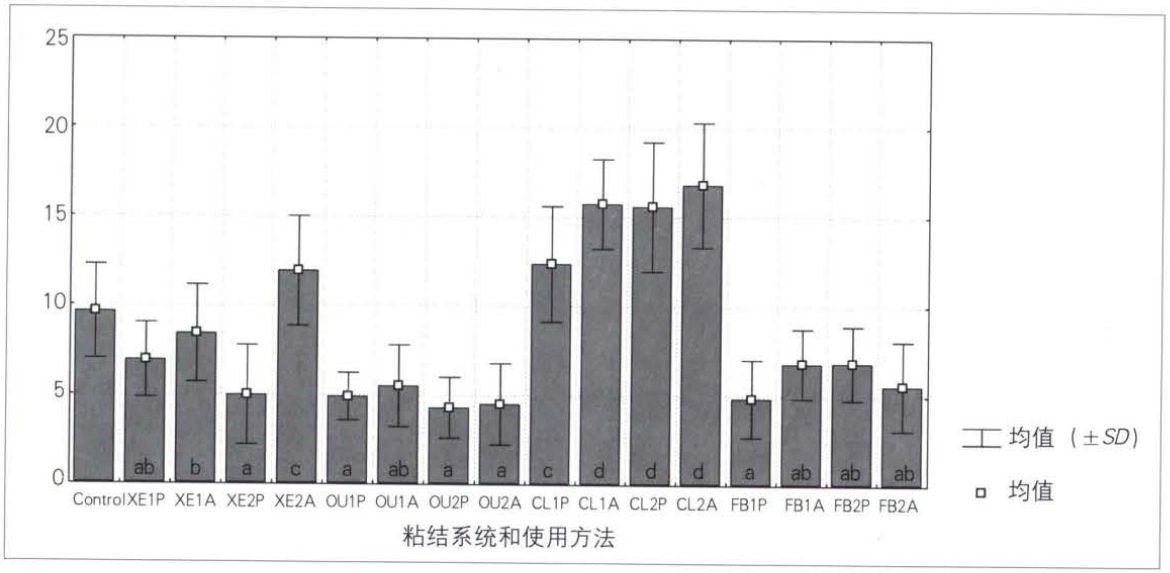

图 2 不同粘结剂类型和使用方法之间的比较以及它们之间相互关系的 Tukey 检验结果（一列中相同字母指没有显著差异）

表 6 各组断裂类型（%）

组	断裂模式			混合
	粘结	树脂内聚	牙本质内内聚	
OU 1P	76	0	0	23.07
OU 2P	90.9	0	0	9.09
OU 1A	93.3	0	0	6.66
OU 2A	100	0	0	0
XE 1P	11.11	0	0	88.88
XE 2P	11.76	0	0	88.24
XE 1A	20	13.33	0	66.66
XE 2A	20	0	0	80
FB 1P	90	0	0	10
FB 2P	20	0	0	80
FB 1A	93.3	0	0	6.66
FB 2A	33.33	0	0	66.66
CL 1P	33.33	20	6.6	40
CL 2P	53.33	13.33	0	33.33
CL 1A	33.33	20	0	46.66
CL 2A	53.33	0	0	46.66
对照组	74.33	6.66	0	20

缩写：OU：One Up Bond F Plus；XE：Xeno Ⅲ；FB：FuturaBond NR；CL：Clearfil SE Bond；1P：被动一层；2P：被动两层；1A：主动一层；2A：主动两层

3.2 扫描电镜分析

图 3 是对照组磷酸酸蚀后的牙本质表面暴露的胶原纤维的扫描电镜分析，显示出多孔质的外观。图 4 ～图 7 为不同粘结剂系统使用不同方法粘结后的牙本质表面外观。当被动使用一层时，所有测试的自酸蚀系统的牙本质表面清晰可见阻塞的牙本质小管和混合层（图 4a、图 5a、图 6a、图 7a）。

对于 One Up Bond F Plus 和 Clearfil SE Bond，无搅拌使用两层与使用一层相比并不能对牙本质状态造成清晰可见的变化（图 4c、图 7c）。主动使用一层时，一些牙本质管部分打开；但当使用 One Up Bond F Plus 时大部分的牙本质表面都存在污染层（图 4b），而使用 Clearfil SE Bond 时仅部分牙本质表面存在污染层（图 7b）。

对于 Xeno Ⅲ和 FuturaBond NR，主动使用一层和被动使用两层产生的状态相似，牙本质小管部分闭塞，大部分的牙本质表面存在混合层（图 5b、图 5c、图 6b 和图 6c）。在搅拌下使用两层产生显著变化，所有测试的粘结系统的牙本质小管几乎完全打开（图 4d、图 5d、图 6d 和图 7d）。

4 讨论

为了使试样规范化，本实验需要大量年龄和大小相仿的牙齿，因此研究者在试验中采用的是牛牙。在牙本质粘结强度测试上，牛牙本质已被证实是一个能替代人牙本质的可行性选择。以往的研究也表明，尽管牛牙本质的密度平均值稍低，但黏附到牛牙本质表面与黏附到人牙本质并无明显不同。此外，在射线密度上牛牙本质与人类基板类似，表明其原子组成和物理结构相似。

为了提高牙本质粘结性能，有不少学者已经提出改变不同的使用方法和使用多层的自酸蚀粘结

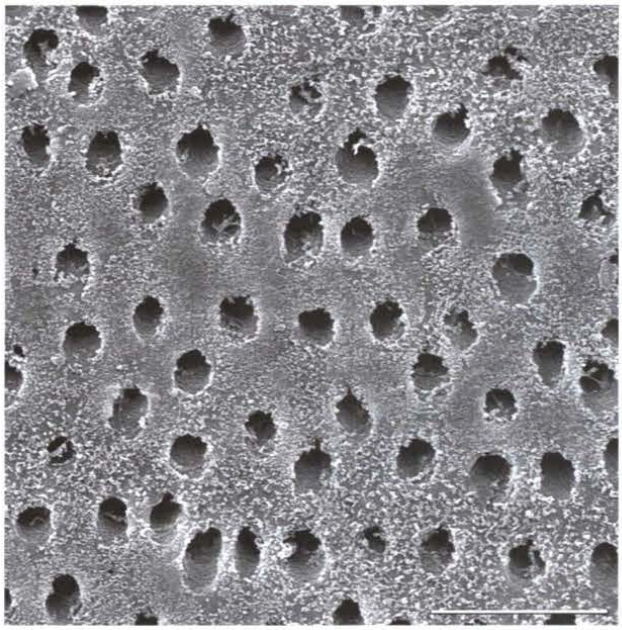

图 3 35%的磷酸酸蚀作用 15s 后的牙本质表面

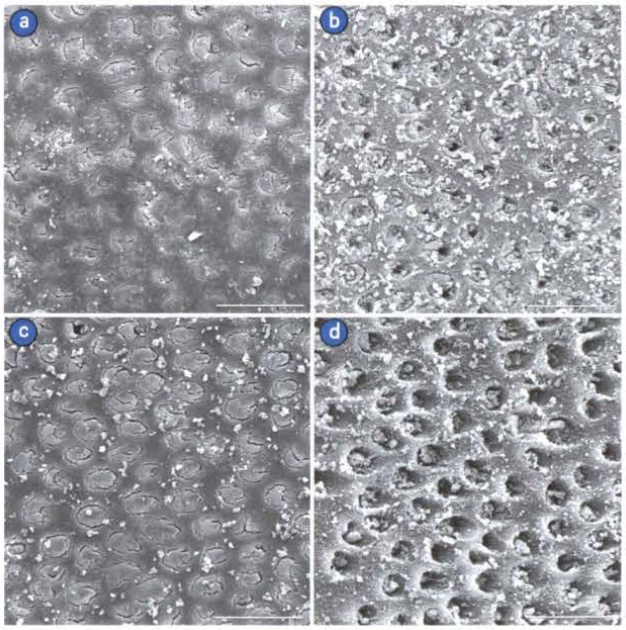

图 4 One Up Bond F Plus 处理后的牙本质表面。a. 被动使用一层；b. 主动使用一层；c. 被动使用两层；d. 主动使用两层

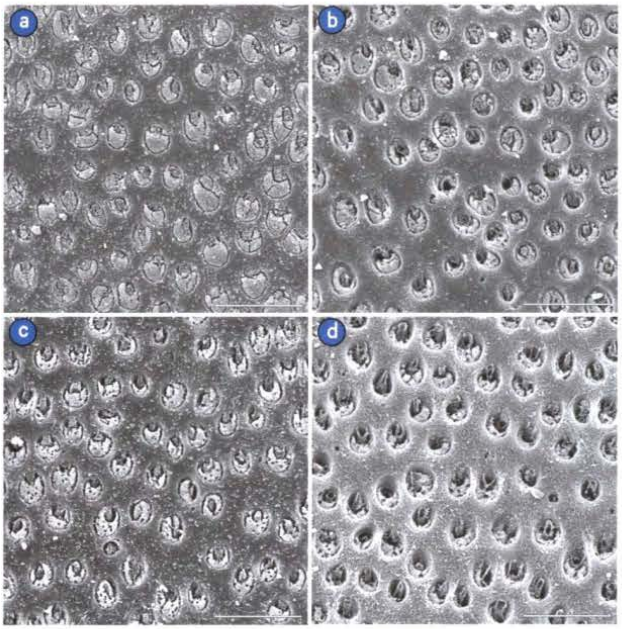

图 5 Xeno Ⅲ处理后的牙本质表面。a. 被动使用一层；b. 主动使用一层；c. 被动使用两层；d. 主动使用两层

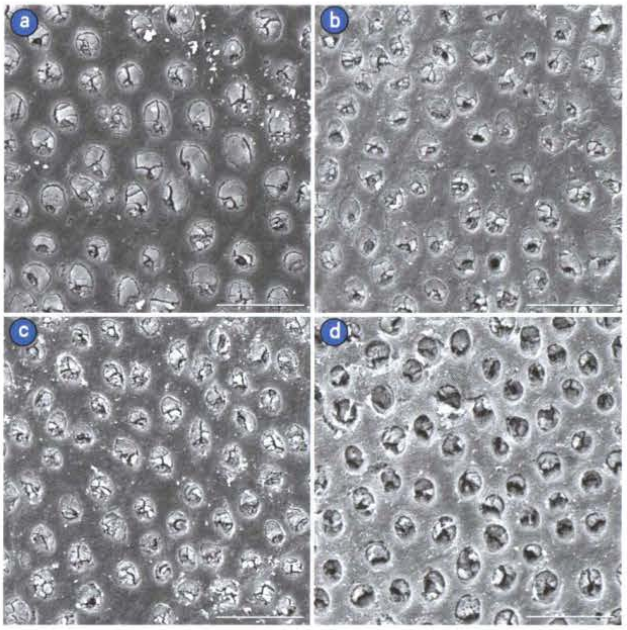

图 6 FuturaBond NR 处理后的牙本质表面。a. 被动使用一层；b. 主动使用一层；c. 被动使用两层；d. 主动使用两层

剂。其中一个替代方案是在牙本质上使用两层自酸蚀粘结剂，此过程旨在增加供给到基板的 H^+ 数量，提高树脂单体渗透到脱钙牙本质间，并增加酸溶解的反应时间。

以往研究表明使用多层自酸蚀粘结剂后可以显著提高作用时间，增加粘结强度。在本研究中，尽管在使用 Xeno Ⅱ和 NR FuturaBond 粘结剂时观察到牙本质状态有少量变化（分别是图 5b 和图 6b），但无搅拌使用两层粘结剂与使用一层相比并没有显著增加粘结强度（表 4）。Nakaoki 等也没有发

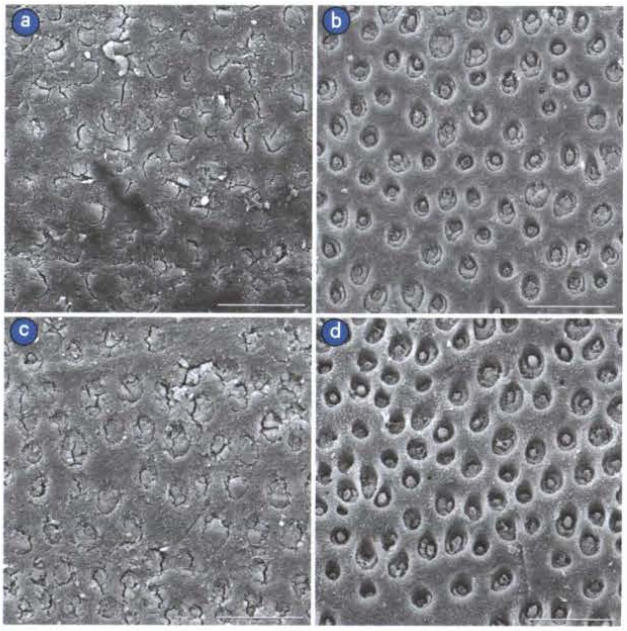

图 7 Clearfil SE Bond 处理后的牙本质表面。a. 被动使用一层；b. 主动使用一层；c. 被动使用两层；d. 主动使用两层

现在使用单层和双层自酸蚀粘结剂时粘结强度有显著性差异，这可能是由于基板表面沉积的羟基磷灰石的不溶性产物阻止了附加的效应。此外，在使用第一层和第二层之间用气枪轻吹增加了粘结剂单体的黏度，可能会阻碍另一层单体与牙本质的接触。

还有研究报道表明粘结剂的厚度增加也会影响粘结强度。根据 Zhen 等的研究，粘结剂的厚度可以干扰粘结强度；但也有之前的研究表明第一层粘结剂光固化后再使用一层可以增强粘结。

此外，也有报道显示，主动使用粘结剂时可以观察到粘结剂的剪切粘结强度增加（表 4）。以往的研究也报道，在搅拌下使用自酸蚀粘结系统，牙本质粘结强度显著增加。可能是由于与被动使用粘结剂相比，主动使用粘结剂的牙基板状态更好。

在图 4c、图 5c、图 6c、图 7c 中均显示出与被动使用一层相比，主动使用粘结剂的牙本质小管呈局部开放状态（图 4a，图 5a，图 6a，图 7a）。这可能是由于单体中 H^+ 与牙基板有更好的接触而致。通过这种方式，反应将不再仅仅取决于溶液离子的扩散（随着其黏度和水含量可以更高或更低）。主动使用粘结剂将产生与粘结面的广泛接触，促进游离 H^+ 与牙齿矿物质的反应，使得新鲜、无缓冲的酸性树脂单体能到达脱矿部位的前方。

对于 Xeno Ⅲ，主动使用两层粘结剂系统能显著提高剪切粘结强度，而 Clearfil SE Bond 仅表现出分散性的增加（图 2）。产生这些结果可能的原因是使用第二层粘结剂时，搅拌时间的延长产生了附加效应。这些因素将增加牙本质小管打开的数量，从而产生较高的粘结强度值。以往的研究也观察到使用单层粘结剂时，处理时间越长牙本质表面的去矿化越显著，因此能增加粘结强度。

SEM 分析结果显示，对于所有测试的粘结剂系统，当主动使用两层粘结剂时可增加牙本质小管的开放，对牙表面破坏性更大（图 4d，图 5d，图 6d、图 7d）。Chan 等也观察到连续搅拌使用自酸蚀粘结剂系统时可部分或完全去除污染层，使牙本质小管完全呈现。

表 5 也显示了测试的粘结剂与对照组（酸蚀冲洗系统）比较的结果。只有 Clearfil SE Bond 系统明显高于对照组的粘结强度值，而搅拌应用 Xeno Ⅲ在统计学上无明显差异。需要强调的是，这一研究结果是无酸蚀状态下得到的，也进一步证实了粘结强度也会受其他因素的影响，如溶剂、引物、粘结剂成分和牙基板的润湿性。

此外，本研究的结果表明，不同的使用方法会给粘结强度造成不同的影响，这取决于被测的粘结剂类型。这一结论与我们最初的科学假设完全相反，因此我们需要进一步研究自酸蚀系统和牙科基板之间的相互作用，以及使用方法对牙本质粘结的影响。这可能会导致更有效，但破坏性较少的粘结系统的出现，也有助于得到更可靠的粘结效果。

5 结论

根据本研究的试验结果仅仅可以得出以下结论。

（1）主动使用自酸蚀粘结系统可以增加牙本质的剪切粘结强度。

（2）不同使用方法对牙本质粘结强度的影响取决于被测试的粘结剂类型。

（3）主动使用一层和两层的 Xeno Ⅲ和 Clearfil SE Bond 产生的平均粘结强度与对照组相似。

6 致谢

感谢圣保罗州研究基金会 FAPESP 提供资助。