



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGÍA RESTAURADORA**

**“ANÁLISIS DESCRIPTIVO MORFOESTRUCTURAL MEDIANTE MICROSCOPIA
ELECTRÓNICA DE BARRIDO DEL EFECTO SOBRE EL ESMALTE DEL
GRABADO ÁCIDO CONVENCIONAL VERSUS GRABADO ÁCIDO EN DOS
TIEMPOS OPERATORIOS “**

Josefa Retamal Martínez

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Marcelo Bader M.

TUTOR ASOCIADO

Prof. Dr. Manuel Ehrmantraut N.

**Adscrito a Proyecto PRIODO/10/002
Santiago – Chile
2012**

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	1
MARCO TEÓRICO	3
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
MATERIALES Y MÉTODOS	14
RESULTADOS	20
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	32
SUGERENCIAS	33
BIBLIOGRAFÍA	34
ANEXOS	39

A Mamá y Totó

***“Inventa mundos nuevos y cuida tu palabra;
El adjetivo, cuando no da vida, mata”***

Vicente Huidobro

AGRADECIMIENTOS

Quisiera poner de manifiesto los más sinceros agradecimientos a mi profesor titular, Dr. Marcelo Bader quien confió en mi, permitiéndome formar parte de este proyecto; por compartir desinteresadamente sus conocimientos, experiencia y otorgarme buenos consejos.

Agradezco en forma muy especial la ayuda recibida por el Dr. Manuel Ehrmantraut quien me hizo sentir muy acogida y realizó en esta investigación muy valiosos aportes.

Al personal del Servicio de Microscopía de la facultad de Medicina de la Universidad de Chile, especialmente a Nancy Olea por su ayuda y paciencia.

A mi hermana melliza, Asunción por acompañarme una vez más en esta tarea y como siempre convertirla en una instancia amena y alegre.

A Fabiola Rojas, quien me apoyó desde un comienzo en las distintas etapas de este trabajo.

A todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

A mi mamá, por comprometer sus esfuerzos en lograr mi felicidad y a aquellos que a lo largo del tiempo se han convertido en una nueva familia, me refiero a mis amigos con quienes nos apoyamos mutuamente a lo largo de nuestra formación profesional y tengo la certeza que seguirá siendo de la misma manera.

Finalmente a los profesores, aquellos que marcaron cada etapa de mi camino universitario.

RESUMEN

La caries dental es una enfermedad de alta prevalencia que tiene como consecuencia la pérdida de tejido dentario (Minsal, 2012). El esmalte es un tejido cristalino, microporoso de alta mineralización y de extrema dureza, sin embargo, al ser acelular, avascular y aneuronal su única y particular forma de reaccionar ante cualquier acción física, química o biológica es con pérdida de fase mineral, cuya magnitud está en relación directa con la intensidad del agente causal (Henostroza G, 2003).

Mediante las restauraciones es que se busca recuperar la forma y función perdidas. Hoy en día se suele acudir a la odontología adhesiva con fin de no comprometer estructura dentaria sana sólo para crear cavidades retentivas.

Uno de los aspectos más importantes de una restauración son el sellado de la interface diente-restauración. La pérdida de la integridad del sellado suele manifestarse como microfiltración (Kihn P y cols,2004).

La microfiltración, que permite el paso de bacterias, fluidos orales y iones entre la pared de la cavidad y la restauración es uno de los parámetros más importantes a manejar por la odontología adhesiva, principalmente por la secuela clínica que acarrea: la aparición de caries secundarias, sensibilidad postoperatoria y teñido de la restauración (Kihn P y cols,2004).

La adhesión a esmalte ha sido bien estudiada y suele arrojar valores bastante estables (Lopes G y cols.,2007). Con una excelente adhesión en el esmalte del borde cavo superficial podríamos evitar la aparición de microfiltración, es por esto que se pensó en una técnica que asegure crear un patrón profundo de grabado en el esmalte, resultando en mayor cantidad de microretenciones y por lo tanto mejor adhesión micromecánica.

El presente estudio propone el grabado ácido en dos tiempos operatorios, en donde tras exponer al esmalte a la reacción con ácido ortofosfórico por 10 segundos, es lavado para ser expuesto a un ácido nuevo, por otros 10 segundos

evitando la autolimitación y decantación de sales que pueden obliterar la superficie adamantina.

Mediante esta investigación se busca observar si existen diferencias en la microestructura del esmalte tras ser sometido a la técnica de grabado ácido convencional, en donde se graba el esmalte con el mismo ácido por 20 segundos, versus una técnica de grabado ácido doble, en donde se graba el esmalte por 10 segundos, se lava y luego vuelve a grabar por 10 segundos.

Para esto se utilizaron 5 dientes, todos terceros molares sanos recientemente extraídos que fueron limpiados y cavitados para luego ser cortados por la mitad y separados en dos grupos.

Grupo A que recibiría técnica de grabado ácido convencional y grupo B que recibiría una variación de la técnica en dos tiempos operatorios.

Todas las muestras fueron llevadas al microscopio electrónico de barrido para observar si existen diferencias en la microestructura.

Como resultado se observaron diferencias, entre las superficies adamantinas de un mismo diente al ser grabadas con los diferentes métodos, existiendo un patrón de grabado con mayor profundidad y porosidad en las muestras sometidas a grabado ácido en dos tiempos operatorios.

Principalmente se puede concluir que existen diferencias microestructurales entre las superficies adamantinas obtenidas tras el grabado según la técnica convencional y las obtenidas mediante el grabado en 2 tiempos operatorios.

MARCO TEÓRICO

Las enfermedades bucales son las más comunes de las enfermedades crónicas y son un importante problema de Salud Pública por su alta prevalencia, impacto en los individuos, la sociedad y el costo de su tratamiento (Minsal, 2012).

La falta de salud de los tejidos mineralizados del diente (esmalte, dentina y cemento) puede estar causada por la pérdida de sustancia originada por:

Procesos infecciosos	→	Caries
Procesos no infecciosos	→	Traumatismos, erosiones, abrasiones.
Falta de sustancia	→	Falta de formación por problemas generalmente de origen embriológico.
Tejidos deficientes	→	Calcificación deficiente o pigmentación irreversible (Machi R , 2007).

La caries se considera una enfermedad infecciosa, crónica y multifactorial cuya prevalencia aumenta sostenidamente con la edad, llegando casi al 100% en la población adulta, se estima que el 0-2 % de los adultos de Chile no poseen historia de caries (Ehrmantraut y Bader, 1994).

La palabra caries se usa cotidianamente para definir tanto el proceso dinámico de desmineralización, es decir la enfermedad y su secuela que son las lesiones de caries.

Las bacterias presentes en el biofilm depositado en la superficie de los dientes se encuentran siempre metabólicamente activas generando variaciones del pH. Estas fluctuaciones pueden causar la pérdida de minerales desde el diente, cuando el pH alcanza niveles bajo 5.5 se produce migración de iones desde el esmalte y cuando el pH comienza a subir se produce la ganancia de minerales (Ehrmantraut

y Bader, 1994).La dinámica constante entre el proceso de desmineralización y remineralización puede determinar la aparición de una lesión de caries, toda vez que el valor neto se traduzca en la pérdida de minerales de los tejidos del diente.

El sistema de salud imperante busca mantener el estado de salud mediante distintas medidas preventivas, sin embargo una vez que esta se pierde y nos encontramos en la presencia de una lesión irreversible, la solución está en agregar la sustancia faltante, reponer la pérdida o cambiar la estructura deteriorada efectuando así una restauración en el diente que puede ser de carácter directa o indirecta dependiendo de su magnitud (Machi R, 2007).

Entre los biomateriales restauradores de aplicación directa las resinas compuestas corresponden a uno de los materiales de mayor uso en Chile (Ehrmantraut y Bader, 1994).

Las resinas compuestas constituyen un material de restauración plástico de obturación que se define como la combinación tridimensional de dos materiales químicamente distintos uno de naturaleza orgánica que conforma la matriz y el otro inorgánica conformando el relleno, unidos entre si por un agente de acoplamiento que es de carácter bifuncional que logra por lo tanto interactuar con ambos compuestos (Uribe,1990).

Las resinas compuestas pueden ser clasificadas según tamaño de su relleno inorgánico en:

RESINAS COMPUESTAS DE MACRORRELLENO

Esta fue la primera generación de resinas compuestas, llamadas también de macropartículas, convencionales o tradicionales. Estas resinas contenían una carga inorgánica de partículas con tamaños que variaban entre 1 a 100 micrómetros (Uribe,1990).

La alta carga inorgánica que se logró con las partículas grandes, se tradujo en una disminución importante en la contracción de polimerización y aumento en la resistencia mecánica. Sin embargo la matriz orgánica resinosa se desgastaba más

rápido que el relleno inorgánico que debido al gran tamaño de partículas otorgaban una textura superficial y rugosa (Sturdevant C, 1996).

Debido a esto se producía el depósito de placa bacteriana aumentando las probabilidades de caries recidivante y pigmentación, lo que trajo consigo deterioro estéticos y funcionales.

Además, el desgaste producido por el estrés y la fatiga termodinámica, provocaba que las partículas fueran expulsadas de la matriz formándose poros y cracks internos. Debido a estos problemas, esta clase de resinas compuestas tuvo poca aceptación clínica, ya que sufrían importantes desgastes y pigmentaciones. Por lo mismo, se intentó mejorar estos materiales, y así surgieron las resinas compuestas de partículas finas (Uribe,1990 ; Saavedra P,2006).

RESINAS COMPUESTAS DE MICRORELLENO

Se crearon para combatir la dificultad de pulido que presentaban los materiales anteriores. Estas resinas compuestas constaban de un relleno de tamaño mucho más pequeño y uniforme, entre 0,04 y 0,05 micrones (Uribe, 1990). Con esto se lograba una muy buena terminación superficial, mejorando de manera sustancial la estética, asimismo presentaban alta resistencia al desgaste. Sin embargo, existió un inconveniente, dado que estas partículas no podían agregarse en alto porcentaje, sus propiedades mecánicas eran inferiores a las resinas compuestas de macrorelleno y también presentaban un mayor coeficiente de variación dimensional térmico (Craig R y cols., 1996; Saavedra P, 2006).

RESINAS COMPUESTAS HÍBRIDAS

Se crearon con el objeto de conciliar las buenas características de las resinas compuestas convencionales y las de microrelleno, es por esto que este sistema presenta los dos tipos de relleno, por un lado ,macropartículas optimizadas entre 1 y 8 micrones y micropartículas de 0.04 a 0.05 micrones , cuyo promedio esta sobre el micrón. Al combinar ambos tipos de relleno se obtienen propiedades mecánicas y de pulido intermedios, resultando en una resina compuesta con un coeficiente de expansión térmica similar a los de micropartícula y más resistente

al desgaste, con una reducida pérdida superficial de relleno. Sin embargo el pulido que logra es menor que al obtenido con resinas compuestas de microrelleno (Uribe, 1990).

RESINAS COMPUESTAS MICROHÍBRIDAS

Fueron concebidas para mejorar las resinas compuestas híbridas en cuanto a su capacidad de pulido, resistencia mecánica y al desgaste. Presentan los dos tipos de partículas de las resinas compuestas híbridas, pero las de mayor tamaño alcanzan los 3 micrones y en promedio el tamaño de las partículas oscila entre 0,4 y 0,9 micrones. Al tener mayor cantidad de relleno le otorga una menor contracción de polimerización y un menor coeficiente de expansión térmica y de sorción acuosa (Bader y cols., 2005).

Tienen buenas propiedades estéticas, acabado, estabilidad de color, resistencia al desgaste y a la fractura (Díaz J, 2004).

RESINAS COMPUESTAS DE NANORELLENO

En estas, las partículas de relleno tienen valores que van desde 5 a 100 nanómetros (Cramer y cols., 2011). Las partículas de estroncio vítreo hacen que tengan buena resistencia al desgaste, pulido de larga duración y mantengan las propiedades de resistencia mecánica. La disminución del tamaño de las partículas, permite realizar una aglomeración de nanorelleno denominada “nanocluster” con lo cual disminuye el porcentaje de matriz orgánica y por lo tanto la contracción de polimerización (Bader y cols., 2005; Hervás-García y cols., 2006).

Independiente del tipo de partícula, las resinas compuestas endurecen por polimerización que tiene como inconveniente la generación de calor y la contracción de polimerización. El primero no afecta en gran medida ya que se utiliza poca cantidad de material y el grado de exotermia no es de gran magnitud; por otro lado, la contracción de polimerización puede traer como consecuencia la formación de una brecha diente –restauración, desencadenando microfiltración, invasión microbiana, sensibilidad pulpar y caries secundarias, llegando incluso a producir microfracturas en el esmalte. La contracción no puede ser evitada, pero

si contrarrestada por los componentes del material y con una adecuada técnica clínica. (Toledo y cols., 2003; Cramer y cols., 2011).

Las resinas compuestas no poseen adhesión específica a las estructuras dentarias, por lo que deben ser fijados mediante un procedimiento clínico específico que involucra el acondicionamiento previo de las estructuras dentarias y el uso de adhesivos adecuados, basándose en los nuevos conceptos desarrollados por la odontología adhesiva.

El ideal de todos los materiales de restauración es la adhesión verdadera. Si se lograra una verdadera unión entre los materiales y las estructuras dentarias, se satisfarían tres objetivos:

1. Conservar mucha más estructura sana del diente.
2. Conseguir una retención óptima.
3. Evitar microfiltraciones (Anusavice KJ, 2004).

La falta de unión química entre los tejidos dentarios y las resinas compuestas, evitan que exista un completo sellado de la interfase diente–restauración, haciéndose necesario el uso de algún elemento que permita la adhesión entre ambas superficies (Van Meerbeek B y cols., 2003). Es por esto que se han ideado distintos procedimientos, dentro de los que destaca el acondicionamiento dentario mediante el grabado ácido total que tiene como objetivo crear microporosidades tanto en esmalte como dentina (Anusavice KJ, 2004).

El sellado marginal se ve afectado cuando la fuerza adhesiva lograda con el diente es superada por la tensión que genera la contracción del material restaurador al endurecer con respecto a la pared cavitaria posibilitándose entonces, la formación de una brecha y como consecuencia la aparición de filtración marginal, la cual se define como el paso clínicamente indetectable de bacterias, fluidos, moléculas e iones entre las paredes cavitarias y el material restaurador aplicado (Taylor M y Lynch E, 1992; Fraunhofer JA y cols., 2000). Este es uno de los parámetros más importantes a manejar por la odontología adhesiva, principalmente por la secuela clínica que

acarrea : la aparición de caries secundarias , sensibilidad postoperatoria y teñido de la restauración (Kihn P y cols, 2004).

Si bien la unión a dentina sólo parece disminuir a lo largo del tiempo, la unión a esmalte parece ser bastante estable (Frankenberger R y cols.,2000; Hashimoto M y cols.,2000). Con los composites actuales y el empleo de los sistemas adhesivos casi toda la retención se consigue a través del grabado ácido del esmalte que se realiza en el borde cavo superficial, para ello se aprovecha todo el esmalte existente a ese nivel (Anusavice KJ, 2004).

La habilidad propia de obtener una adhesión fuerte y durable a dentina como la adhesión a esmalte, es deseable y marca la pauta para su logro o desarrollo. La adhesión a dentina, debe eliminar la penetración de bacterias, disminuyendo el riesgo de caries secundaria, la pigmentación marginal y el daño irreversible a la pulpa dental (Carrillo S, 2006).

Hay diferentes sistemas de adhesivos a dentina que se han presentado a través de los años, que han utilizado diferentes mecanismos, recursos o técnicas para lograr la adhesión.

Los sistemas adhesivos, se encuentran compuestos por un acondicionador o agente imprimante y un agente de enlace y se usan posteriormente a la realización de una técnica de preparación de la estructura dentaria conocida como técnica de grabado ácido del esmalte o del esmalte y dentina (Monsalves S, 2008).

El esmalte constituye el tejido más duro del cuerpo humano. Su porción mineral es aproximadamente el 96% de su peso, el resto son compuestos orgánicos y agua. Los elementos minerales incluyen cristales de hidroxiapatita de 0.03 μm a 0.2 μm (Lopes G y cols.,2007), estos cristales son de naturaleza iónica, ya que la mencionada hidroxiapatita es un compuesto de iones fosfato y calcio junto con grupos hidroxilo, lo que permite considerarla como un fosfato de calcio hidratado. Los cristales se organizan en prismas que son paralelos al eje mayor del diente y perpendiculares a la superficie en la punta de las cúspides y ocasionalmente en el área cervical (Fernandes C y Chevitarese O,1991).

El esmalte es secretado por ameloblastos, cada ameloblasto es responsable de un prisma. La secreción ocurre desde la unión amelo-dentinaria para incrementar el grosor del esmalte hacia la corona (Ramírez F, 1998).

Se solía pensar que los prismas al corte transversal tenían estructura hexagonal, asimismo la definición del prisma con la forma de ojo de cerradura o paleta de ping-pong está en desuso. Actualmente se concibe al prisma del esmalte como una estructura cilíndrica incluida en esmalte interprismático, la que al corte transversal presenta una forma circular (Sasaki y Higashi,1983; Nanci A,2003; Moncada G y Urzúa I, 2008).

Después de la erupción dentaria existe un proceso de maduración del esmalte que consiste en la deposición de mineral desde los fluidos orales hacia los espacios interprismáticos que están siendo ocupados por agua (Lopes G y cols,2007).

Durante la reunión número 32 de la International Association for Dental Research en 1954, Buonocore propuso que utilizando una solución de ácido fosfórico al 85% se podía perpetuar la unión de resina acrílica a esmalte y que esto demoraba 1070 horas en ser separado cuando se almacenaba en agua.

Por décadas ácidos fosfóricos en concentraciones entre 32 y 40% han sido utilizadas para unir materiales a base de resina al esmalte. Estas soluciones pueden presentarse como líquidos, jaleas o geles; las dos últimas al ser más viscosas, dan la ventaja de poder controlar el sitio exacto de colocación, sin involucrar zonas que no requieren la acción de la solución ácida (Machi R, 2007).La retención micromecánica de estos materiales en la porosidad del esmalte, como resultado del grabado ácido crea una unión fuerte y duradera, lo que impedirá la filtración marginal (Anusavice KJ, 2004).

Los iones hidrógeno contenidos en un ácido son capaces de disolver la hidroxiapatita de la superficie adamantina y dejar expuesto un esmalte limpio y con energía superficial alta. El ácido ortofosfórico es relativamente activo y al accionar sobre la hidroxiapatita, lo hace extrayendo calcio, que pasa a formar parte de la solución. Cuando se acumula cierta cantidad se crean fosfatos insolubles que van a reprecipitar sobre la superficie del esmalte neutralizando la acción del ácido. Este

hecho se conoce como efecto autolimitante. Las concentraciones acídicas mayores o menores forman sales de calcio con mayor rapidez y por lo tanto su efecto sobre el esmalte puede ser menos satisfactorio. En el esmalte están expuestos a la acción ácida, tanto las bases de los cristales como sus caras laterales. La acción del ácido se hace con mayor profundidad en la base que en las caras laterales y por ello la acción de eliminación no es pareja (Machi R, 2007).

En los años 60, cuando por primera vez fue clínicamente utilizado este procedimiento el tiempo que se mantenía el ácido era de 60 segundos. En los "80s se redujo a 30 segundos, tiempo válido hasta ahora. Algunos autores recomiendan reducir el grabado a 15 segundos porque simplifica la técnica sin comprometer el desempeño adhesivo (Machi R, 2007).

Una vez que la solución ácida ha actuado sobre el lapso adecuado, debe lavarse el esmalte profusamente con agua a presión, el tiempo mínimo de lavado puede ser estimado en 20 segundos, aunque lo importante es que sea abundante, el objetivo fundamental de este paso es eliminar las sales insolubles que precipitaron sobre la superficie y cobra particular importancia cuando el formato del ácido es en geles o jaleas ya que estos contienen espesantes que pueden permanecer sobre el esmalte (Machi R , 2007) .

Luego del lavado se debe secar por completo la superficie con técnicas que no contaminen la superficie por lo que el aire que se utilice debe estar absolutamente libre de humedad, aceite, etc (Machi R, 2007).

Según la literatura se describen inicialmente 3 patrones de grabado:

Tipo 1:Corresponde a una disolución de la parte central de los prismas, permaneciendo intacta la periferia. Da la idea de un panel de abejas

Tipo 2: Se produce la remoción de la periferia, quedando intactos los centros.

Tipo 3: Hay áreas que corresponden a un patrón tipo 1, otras a tipo 2 y áreas donde se pierde la morfología prismática (Silverstone y cols, 1975).

Luego se agregan el tipo 4 y 5:

Tipo 4: Se aprecia sobre el esmalte una superficie con socavados.

Tipo 5: Se caracteriza por una superficie plana y lisa tras el grabado ácido (Galil y Wright, 1979).

Según la técnica Adhesiva propuesta por el Departamento de Odontología Restauradora de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile el procedimiento se debe efectuar de la siguiente manera (Operatoria Dental Básica, Departamento de Odontología Restauradora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, 2010):

“1. Técnica de grabado ácido del esmalte y dentina con ácido ortofosfórico en gel al 37%, aplicándolo con jeringa hipodérmica o con un pincel. Se realiza primero el grabado ácido del esmalte por un tiempo de 10 segundos, cumplido los cuales se extiende la técnica de grabado ácido a la dentina por 10 segundos adicionales. Esto permite grabar el esmalte por 20 segundos y la dentina por 10 segundos.

2. Lavado con agua por el doble del tiempo de grabado ácido (40 segundos), utilizando la jeringa triple.

3. Secado intermitente y cuidadoso de la preparación biológica, evitando la deshidratación. Este procedimiento lo realizamos colocando papel absorbente estéril en la preparación para proteger de la deshidratación de la dentina y secar el esmalte con la jeringa triple. “

Esta técnica, con algunas variaciones, es la que se repite en ésta y otras Facultades del mundo (Wang y cols., 1994; Lopes G y cols., 2007).

Pero, ¿Son todas las piezas dentarias igual de susceptibles al grabado ácido? Un diente que ha sido sometido a un régimen de fluoruros tiene un comportamiento muy disímil a un diente normal, el flúor provoca la formación de fluoruro de calcio que crea una mayor cantidad de minerales a ser disueltos durante el proceso erosivo en la superficie del esmalte, afectando la unión mediante grabado ácido de resina o sellante (Cheong Y y cols., 2012). Asimismo como resultado del paso del tiempo, cambios relacionados con la edad en la porción orgánica del esmalte cerca de la superficie, causan que el diente se transforme en uno más duro y más resistente a la

desmineralización (Amasyali y cols,2010; Bhaskar S, 1980) . Por otro lado existen diferencias en el patrón de grabado obtenido por los distintos tipos de dientes, siendo mas profundo el obtenido en dientes anterosuperiores (Hobson R y cols., 2001).

Es por esto que se pensó en una técnica que intente respetar estas diferencias en las piezas dentarias para ser utilizada de manera universal, creando un método de grabado en dos tiempos operatorios en la cual tras los 10 segundos de grabado exclusivo del esmalte se procedería a lavar profusamente, secar y luego volver a aplicar el ácido para acondicionar tanto esmalte como dentina por 10 segundos más. Con esta técnica se disminuiría la autolimitación de la reacción química sobre el esmalte y eventualmente se formaría un patrón de grabado más profundo que promueva por lo tanto una adhesión más efectiva.

Esto se puede evaluar a través de la microscopía electrónica de barrido (SEM). Esta es una técnica avanzada que posee la ventaja de otorgar gran profundidad de campo, dando apariencia tridimensional a las imágenes y alta resolución para observar la micromorfología de la superficie adamantina. La preparación que necesitan las muestras es simple, consta de secado y la aplicación de una delgada capa metálica con el fin que estas adquieran mayor conductividad eléctrica (Boyde A, 1975). El microscopio funciona haciendo incidir un haz de electrones sobre la superficie de la muestra, esta interacción crea señales eléctricas que son detectadas hacia un sistema que las capta y traduce en imagen. Para evitar los efectos creados por la atmósfera esto se realiza en un ambiente desprovisto de aire (Azinovic y cols., 2003).

De acuerdo a lo anterior, en el presente estudio se pretende observar a través del microscopio electrónico de barrido, el efecto que produce el grabado ácido sobre el esmalte instrumentado siguiendo la técnica convencional y una técnica distinta de grabado en dos tiempos operatorios.

HIPÓTESIS

Existen diferencias en la microestructura del esmalte obtenido con el grabado ácido convencional y el obtenido en 2 tiempos operatorios.

OBJETIVO GENERAL

Observar a través del microscopio electrónico de barrido si es que existen diferencias morfológicas en el efecto generado en el esmalte por la aplicación de ácido ortofosfórico siguiendo la técnica de grabado convencional en comparación con la técnica en 2 tiempos operatorios.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Observar al microscopio electrónico de barrido la imagen de la superficie obtenida en esmalte tras ser grabado con ácido ortofosfórico con técnica convencional.
2. Observar al microscopio electrónico de barrido la imagen de la superficie obtenida en esmalte tras ser grabado con ácido ortofosfórico con técnica en 2 tiempos operatorios.
3. Analizar comparativamente las microestructuras encontradas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo corresponde a un estudio de tipo descriptivo donde se utilizó la observación como método de investigación.

En el estudio se usó una muestra de 5 piezas dentarias, molares sanos, macroscópicamente libre de caries, recién extraídos (semi-incluidos) y mantenidos en suero fisiológico. Su recolección se realizó previo consentimiento informado firmado por el paciente portador de estos. (Ver Anexo)

Se realizó limpieza mecánica de cada molar con escobilla suave, agua y curetas gracey 7-8 marca American Eagle USA, para eliminar los restos de tejidos blandos y sangre que pudieran quedar presentes.

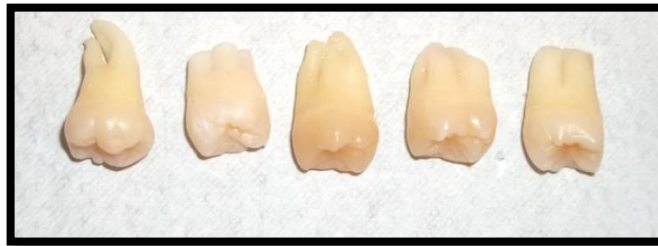


Figura 1 - Molares una vez limpios.

Se realizaron cavidades oclusales estandarizadas clase I de 2mm de ancho, 3mm de largo mesio-distal y 3mm de profundidad, para esto se utilizó turbina W&H modelo Alegria HS serie 30899 y fresas de diamante nuevas :

- Redonda SS White de 016 ISO 806314001524016 Lot.201100028596. Para abrir la cavidad.
- Cilíndrica SS White de 014 ISO 806314111524014 Lot.201100020353. Para conformar la cavidad.



Figura 2 – Realizando cavidad con fresa cilíndrica

Se enumeraron las coronas del 1 al 5 y pintaron de rojo las superficies palatinas y de morado las vestibulares.

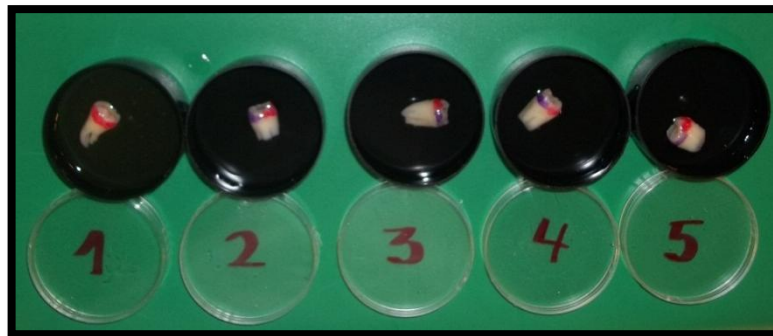


Figura 3 – Dientes enumerados ,pintados y almacenados en suero fisiológico.

Se cortaron las raíces con micromotor W&H, pieza de mano W&H modelo Alegra HE-43, porta disco y disco de diamante de 0.2mm de grosor.



Figura 4 – Disco de diamante.

Se seccionó cada pieza dentaria en sentido mesio-distal obteniéndose dos mitades de cada molar, utilizando un nuevo disco de diamante, teniendo 10 muestras en total.

Las mitades palatinas/linguales conformaron el subgrupo A y las mitades vestibulares conformaron el subgrupo B.

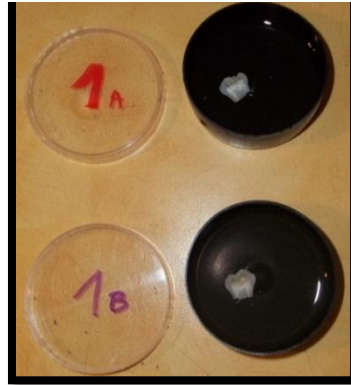


Figura 5 – Diente 1 dividido en mitad palatina (1 A) y vestibular (1 B).

Luego cada muestra se seccionó en sus extremos mesiales y distales con el fin de tener una muestra pequeña y cuadrangular. Finalmente se dispusieron sobre un soporte para que pudieran ser grabadas.

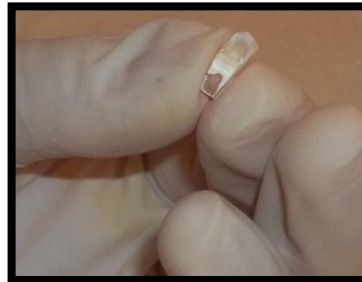


Figura 6 – Muestra tras seccionar extremos distal y mesial.



Figura 7 –Todas las muestras dispuestas sobre una superficie para ser grabadas, al lado derecho las muestras A y al lado izquierdo las B.

Para el grabado ácido se utilizó ácido fosfórico al 37.5% de Kerr corporation. Item N° 31297, Lot.3636668.



Figura 8 – Ácido fosfórico utilizado.

Las muestras del subgrupo A fueron grabadas siguiendo los pasos:

1. Aplicar ácido ortofosfórico, sólo en esmalte por 10 segundos.
2. Agregar ácido en dentina por otros diez segundos, teniendo un tiempo de acondicionado total de 20 segundos en esmalte.
3. Lavar profusamente por 40 segundos con agua.
4. Secar la dentina con motitas y el esmalte con jeringa triple.

Las muestras del subgrupo B fueron grabados siguiendo los pasos:

1. Aplicar ácido ortofosfórico, sólo en esmalte por 10 segundos.
2. Lavar por 20 segundos con agua y secar.
3. Aplicar ácido ortofosfórico en esmalte y dentina por 10 segundos.
4. Lavar profusamente por 20 segundos con agua.
5. Secar la dentina con motitas y el esmalte con jeringa triple.

Para calcular el tiempo los segundos fueron cronometrados con cronometro marca Casio HS-70W.

Una vez grabadas las muestras fueron guardados en seco hasta que fueron llevadas al equipo del laboratorio de microscopía electrónica CESAT-ICBM de la facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

Las muestras fueron secadas a 37° C durante 24 horas con calor seco, para después ser montadas de a pares sobre un soporte circular al cual se adhirieron con tintura de plata y luego fueron metalizadas con paladio-oro 10 nm de espesor en un sputter marca Polaron, modelo E-500,UK,1992.

El microscopio utilizado es el Digital Scaning Microscope DSM 940 Zeiss, Alemania, 1990.



Figura 9- Dos muestras metalizadas.

A continuación las 10 muestras fueron observadas en el microscopio electrónico de barrido con aumento de 100x, 500x, 1000x, 3000x, 5000x y 10000x. Se fotografiaron con la cámara Canon EOS REBEL XT por el que está provisto el microscopio. Las imágenes obtenidas fueron analizadas para comparar la morfología de la superficie adamantina y ver las diferencias microestructurales existentes tras el grabado obtenido.



Figura 10- Microscopio electrónico de barrido.

Las comparaciones se realizaron entre las mitades del mismo diente tratadas de manera diferente y con el mismo aumento.

RESULTADOS

Análisis de la micromorfología de la superficie adamantina.

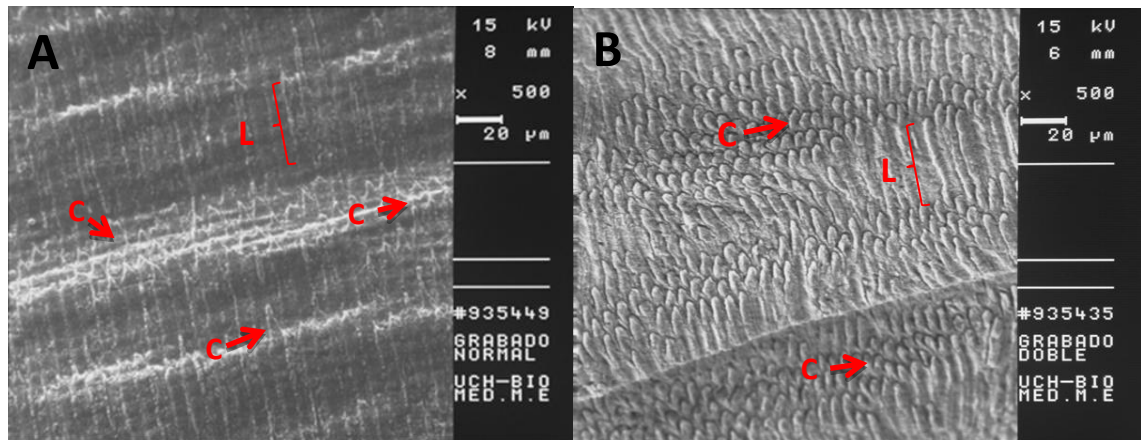


Figura 11: Imágenes SEM correspondientes al esmalte de la superficie interna de la pared lateral de una cavidad tras ser grabada con ácido ortofosfórico utilizando **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica de grabado en 2 tiempos operatorios (Aumento de 500x).

En ambas figuras se observan cabezas de prismas de esmalte (**C**) y luego los prismas a lo largo (**L**). El grado de desmineralización y porosidad observado en la figura 11 A es menor a la observada en la figura 11B, donde se puede contar mayor número de cabezas de prismas y da una idea de mayor profundidad de esmalte grabado.

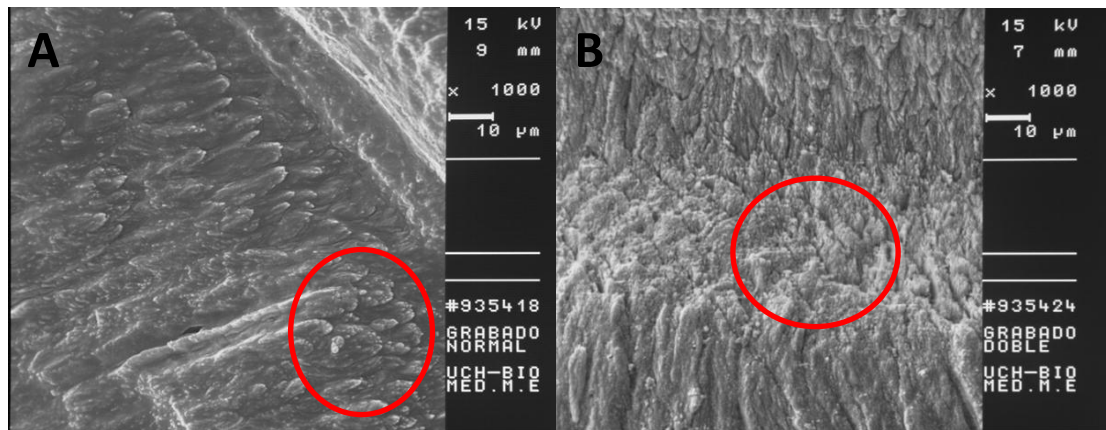


Figura 12: Imágenes SEM correspondientes a la superficie lateral de una cavidad tras ser grabada con ácido ortofosfórico utilizando **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica de grabado en 2 tiempos operatorios (Aumento de 1000x).

Los círculos rojos enmarcan cabezas de prismas expuestas durante el grabado ácido.

Destacan en la figura 12 B la mayor porosidad lograda y profundidad del patrón de grabado versus la figura 12 A en donde la superficie adamantina se ve más regular.

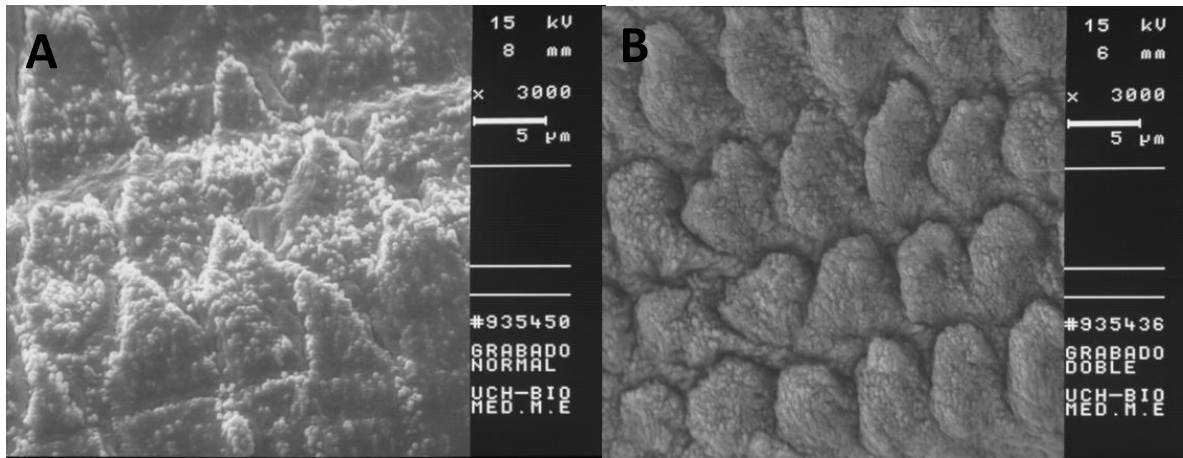


Figura 13: Imágenes SEM correspondientes a las cabezas de los prismas de esmalte tras grabado ácido realizado mediante **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica en dos tiempos operatorios (Aumento 3000x).

En la figura 13A se observa un patrón de grabado como punta de lápiz con algunas microporosidades. En la figura 13B se observa un patrón de grabado tipo 2, con abundantes microporosidades y con una delimitación más nítida de las cabezas de los prismas, lo que significaría un mejor sustrato retentivo para el adhesivo.

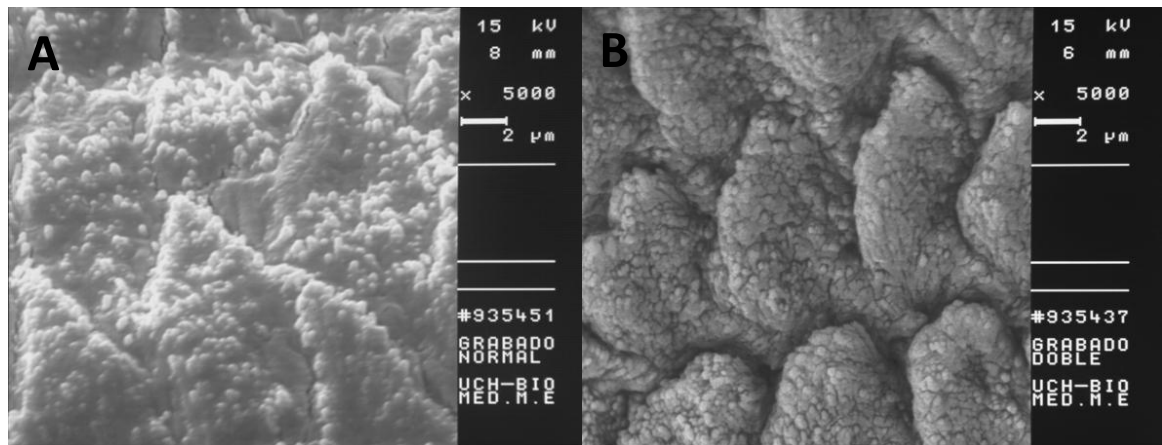


Figura 14: Imágenes SEM correspondientes a las cabezas de los prismas de esmalte tras grabado ácido realizado mediante **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica en dos tiempos operatorios (Aumento 5000x).

Las microporosidades observadas en ambas imágenes corresponden a los prismas del esmalte expuestos. En la figura 14 A se puede observar un patrón más liso entorno a estas microporosidades mientras que en la figura 14B éstas se encuentran de manera continua una al lado de la otra.

Confirmando lo observado en las fotografías anteriores, se puede establecer que el grabado en dos tiempos operatorios permite lograr un cambio micromorfológico más sustantivo en los prismas del esmalte, dejando un patrón de grabado con surcos más marcados entre los prismas y creando mayor cantidad de microporosidades en su superficie.

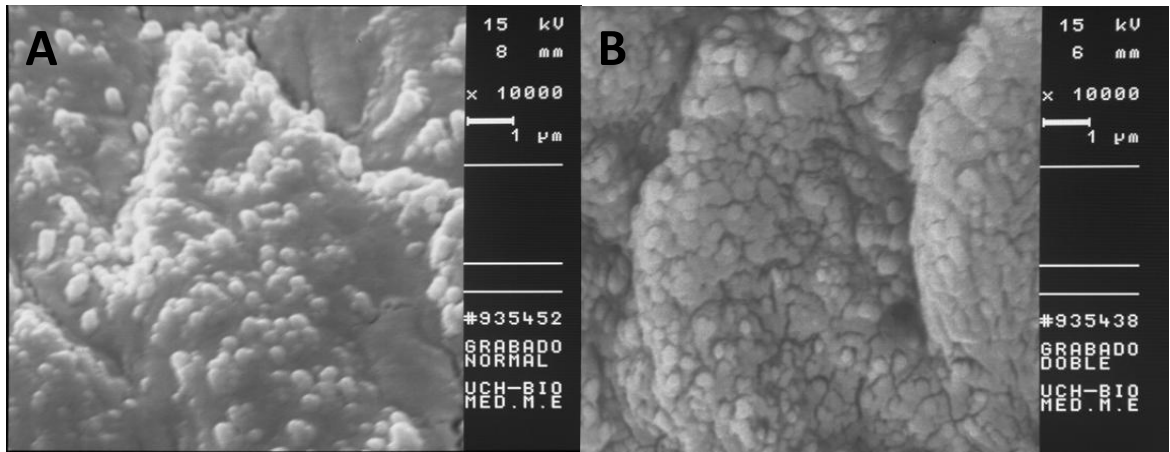


Figura 15: Imágenes SEM correspondientes a la cabeza de un prima de esmalte tras grabado ácido realizado mediante **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica en dos tiempos operatorios (Aumento 10000x).

En ambos casos podemos observar la desmineralización del esmalte interprismático y la exposición de aglomeraciones de cristales de hidroxiapatita. En la figura 15B se observa mayor densidad de cristales expuestos y un patrón de grabado más eficaz.

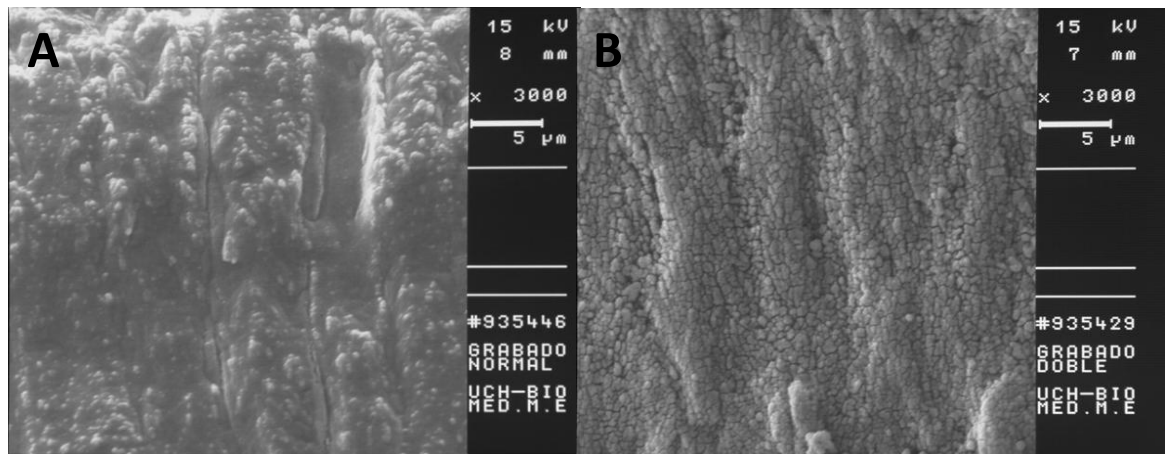


Figura 16: Imágenes SEM correspondientes a esmalte de la pared lateral de la superficie cavitaria, observándose prismas de manera longitudinal tras grabado ácido realizado mediante **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica en dos tiempos operatorios (Aumento 3000x).

En ambas imágenes queda de manifiesto la pérdida del esmalte interprismático, exponiendo los prismas y aglomeraciones de cristales de hidroxiapatita. En la figura 16 A se ven aglomeraciones de cristales separadas a lo largo del prisma mientras que en la figura 16 B se observan una al lado de la otra, mostrando una exposición homogénea.

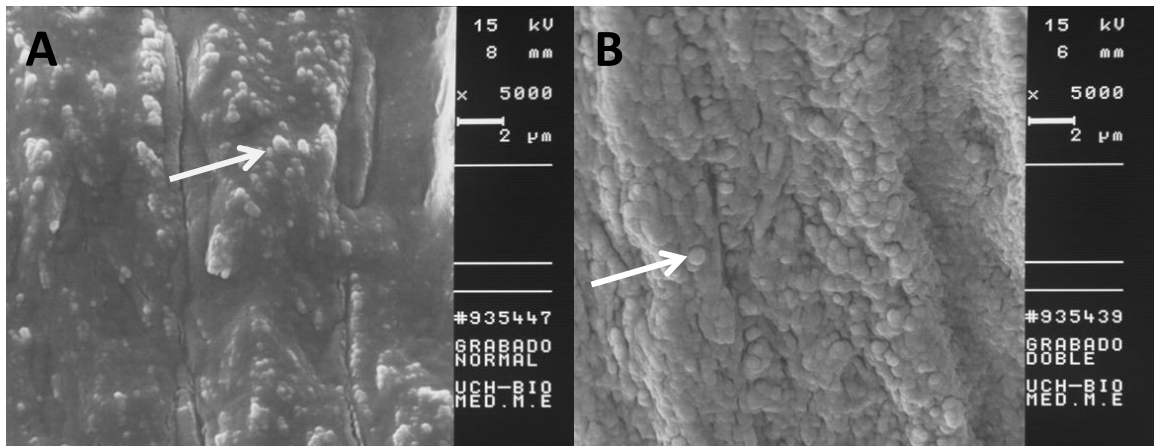


Figura 17: Imágenes SEM correspondientes a esmalte de la pared lateral de la superficie cavitaria, observándose prismas de manera longitudinal tras grabado ácido realizado mediante **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica en dos tiempos operatorios (Aumento 5000x).

En ambos casos lo señalado con la flecha blanca corresponde a una aglomeración de cristales de hidroxiapatita que ha quedado expuesto tras el grabado ácido. La figura 17 B presenta mayor densidad de estas aglomeraciones expuestas.

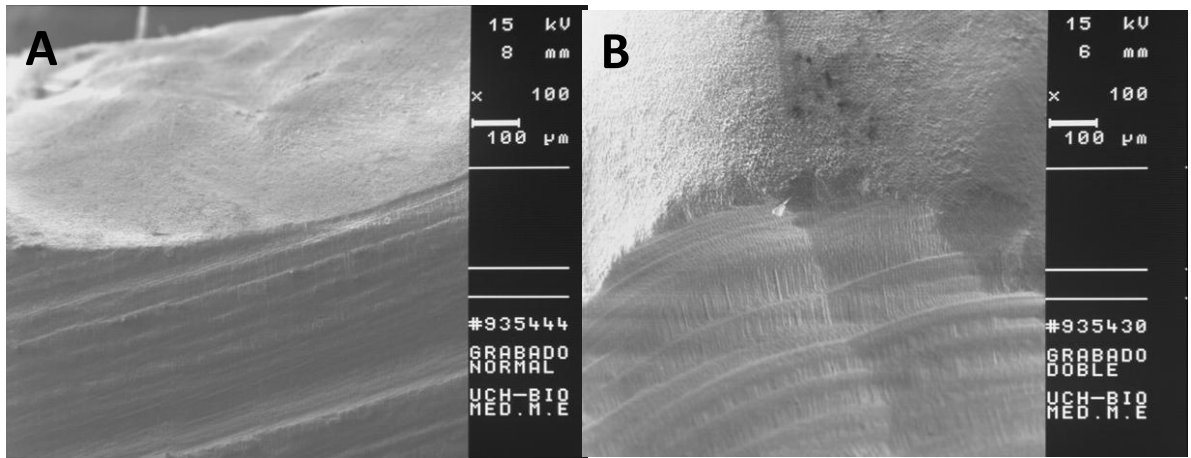


Figura 18: Imágenes SEM correspondientes al borde cavo superficial de una cavidad tras ser tratado con grabado ácido mediante **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica en dos tiempos operatorios (Aumento de 100x).

Se observan diferencias en cuanto al grado de porosidad obtenido, siendo mayor el de la figura 18 B.

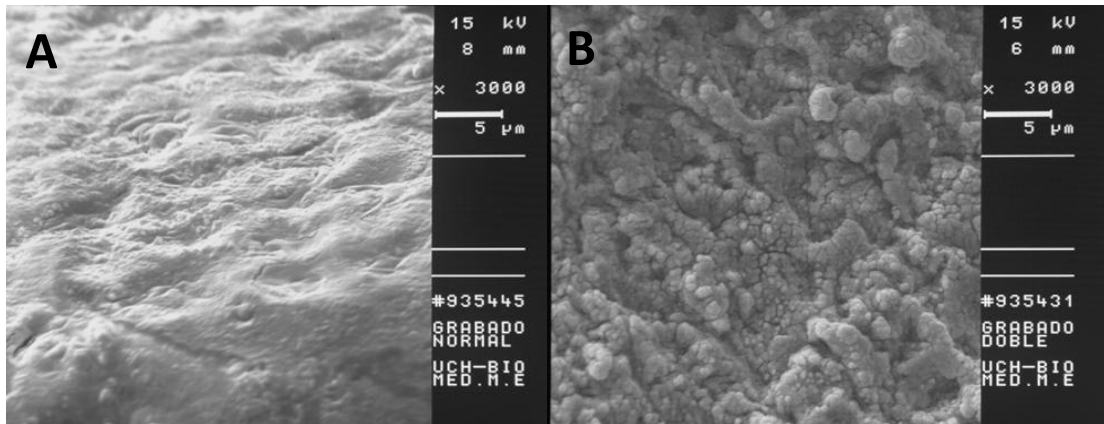


Figura 19: Imágenes SEM correspondientes a la superficie no instrumentada de una pieza dentaria tras ser tratada con grabado ácido realizado mediante **(A)** técnica convencional y **(B)** técnica en dos tiempos operatorios (Aumento de 3000x).

Entre ambas superficies se aprecian diferencias en el grado de porosidad alcanzado, siendo mayor el obtenido con la técnica de grabado ácido doble. En la figura 19 A se logra una leve textura sobre la superficie, similar a un patrón de grabado tipo 4 mientras que en la figura 19 B se observan mayor cantidad de irregularidades.

DISCUSIÓN

La adhesión de los materiales de restauración al tejido dentario constituyen un constante desafío para la odontología con el fin de lograr encontrar una estrategia que permita mayor longevidad de las obturaciones .

Hace años que la técnica de grabado ácido total constituye una forma segura y efectiva para lograr adhesión en el esmalte, sin embargo aún no se logra idear una manera de evitar la microfiltración como puerta de entrada de microorganismos que deriva en caries secundaria.

El presente estudio intentó conciliar la idea de que cada pieza dentaria tiene distintos grados de susceptibilidad a la desmineralización por grabado ácido, ejemplo de esto son los distintos grados de profundidad de patrón de grabado entre piezas sanas y piezas con fluorosis, entre piezas jóvenes versus piezas seniles y los distintos tipos de diente entre si(Anusavice K y cols.,2012; Cheong Y y cols, 2012; Amasyali y cols,2010; Bhaskar S, 1980; Hobson R y cols., 2001). Por lo tanto resultaría altamente efectivo poder encontrar una técnica donde el patrón de grabado sea el más adecuado para lograr de manera segura una alta adhesión.

Como resultado de la nueva técnica de grabado ácido propuesta, versus la técnica convencional, se observan diferencias entre las superficies de un mismo diente, instrumentado con las mismas fresas, que han ocupado distintas formas de grabado.

En todas las muestras observadas al microscopio el patrón de desmineralización sobre las piezas tratadas con técnica de grabado convencional mostraban una superficie con exposición dispersa de aglomeraciones de cristales, mientras que aquellas tratadas con doble grabado ácido mostraban una continua exposición de estas.

Si bien el motivo de este estudio consiste en conocer si existen diferencias micromorfológicas y no hacer mediciones, la nueva técnica propuesta da una imagen de un mejor patrón de grabado, con una adecuada exposición de los

prismas y con una superficie más irregular ,lo que beneficiaría el proceso de adhesión .

Se pueden inferir similitudes entre este estudio y el realizado por Lima A y cols. en donde el patrón de grabado obtenido es mucho más profundo al utilizar grabado total y un adhesivo autograbante que cualquier patrón obtenido utilizando cualquiera de estos dos procedimientos por separado. Esto se atribuye a la existencia de un doble contacto de la superficie al efecto de ácido; primero ácido ortofosfórico y luego los ácidos del primer. Asimismo la fuerza de adhesión, fue mayor en el esmalte que había sido sometido a grabado ácido por 15 segundos y luego a un sistema autograbante (Lima A y cols, 2012).

De esta misma manera muchos otros estudios demuestran que al grabar previamente el esmalte con ácido ortofosfórico y luego utilizar adhesivo de autograbado, la microfiltración es significativamente reducida (Brackett, 2006; Manuja y cols., 2012) y la fuerza de adhesión aumenta sustancialmente (Miguez P y cols., 2003; Erhardt M y cols., 2004 Van Meerbeek B y cols.,2005; Van Landuyt y cols.,2006; Luhrs A y cols., 2008).

Las diferencias observadas en este estudio se podrían atribuir a que tras la exposición al ácido en un primer tiempo se logra tener una superficie más lábil a ser grabada en un segundo tiempo. Al hacer el grabado en un solo tiempo operatorio, es decir por 20 segundos seguidos, desde el momento que el ácido inicia su actuar, este se empieza a tamponar, sobresaturar y a medida que esto pasa existe una precipitación de sales, fenómeno conocido como efecto autolimitante. Disminuyendo por lo tanto la efectividad de grabado del ácido. Al hacerlo en dos tiempos operatorios, el primer ácido actúa pregrabando, dejando un sustrato más susceptible de volver a grabar por un ácido nuevo y resultando en un patrón de grabado más regular, lo que significaría un mejor sustrato retentivo para el adhesivo.

Esto puede ser corroborado por el estudio realizado por Retamal A, quien demostró que existen diferencias significativas en el grado de microfiltración marginal entre restauraciones de resina compuesta realizadas con técnica de

grabado ácido convencional y aquellas realizadas con grabado ácido en dos tiempos operatorios, siendo esta segunda técnica la que reportó mejor desempeño en cuanto al grado de sellado marginal(Retamal A, 2012).

CONCLUSIONES

De acuerdo a la metodología utilizada en este estudio y a partir de los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

-Existen diferencias microestructurales entre las superficies adamantinas. Aquellas en que se utiliza grabado ácido en dos tiempos operatorios, presentan un patrón más regular y con mayor cantidad de microporosidades que el obtenido con la técnica de grabado ácido convencional.

-Las diferencias son observadas tanto en superficies no instrumentadas como en las que forman parte de las cavidades.

-Las superficies producidas por ambos métodos, se condicen con patrones convencionales de grabado adamantino.

- Las diferencias podrían atribuirse a que al grabar el esmalte, en dos tiempos operatorios, en un primer tiempo se consigue un sustrato más lábil para ser acondicionado en un segundo tiempo por un ácido nuevo. Asimismo se evita la tamponación, sobresaturación y precipitación de sales que ocurre con el grabado convencional en un solo paso.

SUGERENCIAS

Resulta importante realizar más estudios comparativos, para comprobar si es que la diferencia observada en la micromorfología realmente se traduce en diferencias en el sellado marginal obtenido, fuerza de adhesión y también evaluar el éxito clínico que pudiera otorgar esta técnica.

BIBLIOGRAFÍA

Amasyali M, Uysal T, Ozcan S, Sagdic D (2010) "Deminerlization properties of newly erupted and mature premolars around orthodontic brackets: An in-vivo study", *Am J Orthod Dentofacial Orthop* ;137:pp582.e1-582.e6

Anusavice K et al. (2012) Enamel roughness and depth profile after phosphoric acid etching of healthy and fluorotic enamel. *Aust Dent J.*;57(2):151-6. doi: 10.1111/j.1834-7819.2012.01677.x. Epub Apr 11.

Anusavice K J. (2004) *Phillips :ciencia de los materiales dentales* . 11a. ed. Barcelona : Elsevier, pp 382-6.

Azinovic Z, Keros J, Bukovic D, Azinovic A (2003) "SEM Analysis of Tooth Enamel", *Coll. Antropol.* 27 (1): pp381–386

Bader M., Ehrmantraut M., Baeza R., Ortega R. (2005). Resistencia al desgaste de resinas compuestas de nanorelleno. *Rev Fac Odont Univ de Chile.* 23(1): pp17-28.

Bhaskar SN. (1980) *Orban's oral histology and embryology.* 9th ed. St Louis: C.V. Mosby; pp. 46-106.

Boyde A (1975) "Scanning electron microscopy of enamel surfaces", *Br Med Bull*, 31(2): pp120-124

Brackett MG, Brackett WW, Haisch LD. (2006) "Microleakage of Class V resin composites placed using selfetching resins: Effect of prior enamel etching." *Quintessence Int* ;37:pp109-13.

Carrillo SC. (2006) "Dentina y adhesivos dentinarios", *Revista ADM* ;LXIII(2):pp45-51.

Cheong Y, Choi S, Jung Kim S, Park H (2012) Nanostructural effect of acid-etching and fluoride application on human primary and permanent tooth enamels , *Materials Science and Engineering C* ,Article in press. doi:10.1016/j.msec.2012.02.030

Craig R, O'Brien W, Powers J (1996). *Materiales Dentales, Propiedades y Manipulación*. Sexta edición. Editorial Mosby. Madrid. 249p. Cáp. 1 y 4 . Págs 1-9; 55-78.

Cramer NB., Stansbury JW., Bowman CN. (2011). Recent Advances and Developments in Composite Dental Restorative Materials *J Dent Res*. 90(4): pp402-16.

De Munck J, Van Meerbeek B, Satoshi I, et al.(2003) Microtensile bond strengths of 1- and 2-step self-etch adhesives to bur-cut enamel and dentin. *Am J Dent*;16:pp 414-20.

Diaz J. (2004) " Estudio comparativo In vitro de la resistencia adhesiva de tres resinas compuestas de nanorelleno". Trabajo de investigación requisito para optar al título de cirujano dentista. Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Ehrmantraut M., Bader M. (1994). Polimerización de Resinas Compuestas a través de Estructuras Dentarias. *Rev Fac Odont Univ de Chile*. 12(2): 22-27.

Erhardt M, Cavalcante L, Pimenta L.(2004) "Influence of phosphoric acid pretreatment on self-etching bond strengths." *J Esthet Restor Dent* ;16: pp33–41.

Fernandes CP, Chevitaese O.(1991) "The orientation and direction of rods in dental enamel". *The Journal of Prosthetic Dentistry* ;65:pp793–800.

Frankenberger R, Kramer N, Petschelt A (2000) Long-term effect of dentin primers on enamel bond strength and marginal adaptation, *Oper Dent*, 25 pp. 11–19

Fraunhofer JA, et al. (2000) " The effect of tooth preparation on microleakage behaviour", *oper dent* , 25 : pp 526-33

Galil KA, Wright GZ (1979): "Acid etching patterns on buccal surfaces of permanent teeth". *Ped Dent*, 4: 230-234.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Sano H, Endo K, Oguchi H (2000) " In vivo degradation of resin–dentin bonds in humans over 1–3 years " *Journal of Dental Research*, 79 : pp. 1385–1391

Henostroza G,(2003) La adhesión en la odontología, 1 era edición, Editorial MAIO, pp 43- 51,72-81,101-108,114-131.

Hervás-García A, Martínez-Lozano MA, Cabanes-Vila J, Barjau-Escribano A, Fos-Galve P (2006). Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 1; 11(2):pp E215-20.

Hobson R et al. (2001) “ Bond strength to surface enamel for different tooth types”,*Dental Materials*, 17 :pp184-189

Inoue S, Vargas MA, Abe Y, et al.(2003) Microtensile bond strength of 11 contemporary adhesives to enamel.*Am J Dent* ;16:329-34.

Kihn PW, Spangarberg PA, Von Frahofer J. A.(2004) “The role of cavity preparation and conditioning in the leakage of restorations” , *J Adhes dent* ;6: 287-291

Lima A, Silva V, Soares G, Marchi G, Aguiar F, Lovadino (2012)J. Influence of previous acid etching on interface morphology and bond strength of self-etching adhesive to cavosurface enamel, *European Journal of Dentistry*, vol 6: pp 56-62.

Lopes GC, Thys DG, Klaus P, Oliveira GM, Widmer N(2007) Enamel acid etching: a review. *Compend Contin Educ Dent*, 28(1):pp18-24

Luhrs A, Guhr S, Schilke R, Borchers L, Geurtsen W, Gunay H.(2008) “Shear bond strength of self-etch adhesives to enamel with additional phosphoric acid etching.” *Oper Dent*;33:155-62.

Machi R . (2007) *Materiales dentales* , 4ta edicion ,ed :Buenos Aires : Médica Panamericana, pp 115-7,129-32.

Manuja N, Nagpal R, Chaudhary S (2012) “Bonding Efficacy of 1-Step Self-Etch Adhesives: Effect of Additional Enamel Etching and Hydrophobic Layer Application”. *Journal of Dentistry for Children*-79:1,pp 3-8.

Miguez P, Castro P, Nunes M, Walter P, Pereira P.(2003) “Effect of acid-etching on the enamel bond of two self-etching systems.” *J Adhes Dent* ;5:pp 107–12.

Ministerio De Salud,Chile.(2012) Análisis de Situación Salud Bucal [Fecha De Acceso: 31 de marzo de 2012. URL: <http://www.minsal.gob.cl/portal/url/item/9c81093d17385cafe04001011e017763.pdf>]

Moncada G, Urzúa I. (2008)Cariología Clínica Bases preventivas y restauradoras. Santiago . Universidad de Chile.Primer edición. pp107-112.

Monsalves S. (2008)“Evaluacion de la resistencia adhesiva a la dentina de restauraciones de resina compuesta realizadas con un adhesivo de grabado y lavado y un adhesivo autograbante”. Trabajo de investigación requisito para optar al titulo de cirujano dentista.Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Nanci A. (2003)Enamel :composition, formation and structure. Cate’s Oral Histology: Development, structure, and function ,ed 6. St Louis: Mosby:pp145-91

Operatoria Dental Básica,Departamento de Odontología RestauradoraFacultad de Odontología, Universidad de Chile. (2010) “Módulo : Restauraciones plásticas clases I, III y mínimamente invasiva “.

Ramirez F.(1998) “Enamel structure and development and its application in hominid evolution and taxonomy”, Journal of Human Evolution ,35: pp327–330.

Retamal A. (2012),” Analisis comparativo y in vitro del grado de filtración marginal de restauraciones de resina compuesta realizadas con dos métodos de grabado ácido distinto”. Trabajo de investigación requisito para optar al titulo de cirujano dentista.Facultad de Odontología, Universidad de Chile,en prensa.

Saavedra P. (2006)“Comparación “In vitro” del grado de resistencia adhesiva de los sistemas adhesivos Single bond y Adapter single bond2”. Trabajo de investigación requisito para optar al titulo de cirujano dentista.Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Sasaki ,Higashi.(1983) “Scanning and Transmission Electron Microscopy of DevelopingEnamel Surfaces in the Kitten Tooth Germs”, J. Electron Microsc, Vol. 32, No. 2, pp163-171.

Silverstone LM, Saxton CA, Dogon IL, Fejerskov O.(1975): "Variation in the pattern of acid etching of human dental enamel examined by scanning electron microscopy". *Caries Res*, 9: pp373-387.

Sturdevant C, Roberson T, Heymann H , Sturdevant J. (1996)Arte y ciencia: Operatoria Dental. 3era ed. Ed. Mosby/Doyma Libros S.A.,pp 253-65.

Swift E., Perdigao J., Heymann H.O. (1995)"Bonding to enamel and dentin: A brief history and state of the art". *Quintessence Int.* 26(2):pp 95-110.

Taylor M, Lynch E(1990)" Microleakage review", *Jdent* ,20: pp 3-10.

Toledo M, Osorio R, Sánchez F, Osorio E (2003). *Arte y Ciencia de los Materiales Odontológicos*. Ediciones Avances. Cap.4

Uribe J. (1990) *Operatoria dental ciencia y practica*, Ed. Avances Médico – Dentales. Madrid .Cap 8" *Sistemas resinosos compuestos*", p 207-222

Van Landuyt KL, Kanumilli P, De Munck J, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B.(2006) "Bond strength of a mild self-etch adhesive with and without prior acid-etching." *J Dent* ;34:pp77-85.

Van Meerbeek B, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt KL, Lambrechts P, Peumans M. (2005)"A randomized controlled study evaluating the effectiveness of a two-step self-etch adhesive with and without selective phosphoric-acid etching of enamel. *Dent Mater* ;21:pp375-83.

Van Meerbeek B. , De Munk J, Yoshida Y, Inoue S(2003) *Buonocore Memorial lecture* "Adhesion to enamel and dentine: current status and future challenges "

ANEXOS

Yo Condelaria Retamal M voluntariamente dono
mi(s) pieza(s) dentarias extraídas por el Dr. M. Macdonnes,
para que estos sean utilizadas con fines científicos en investigación in vitro
por la alumna de sexto año de la Facultad de Odontología de la Universidad
de Chile Josefa Retamal Martínez .

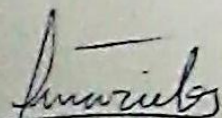
Josefa Retamal M
Josefa Retamal Martínez / Mama
Firma del Paciente o representante legal
(en caso de ser menor de edad) 16 años

16 - 04 - 2012

Fecha

Consentimiento informado

Yo Natalia Diaz O voluntariamente dono
mi(s) pieza(s) dentarias extraídas por el Dra Y. Niño ,
para que estos sean utilizadas con fines científicos en investigación in vitro
por la alumna de sexto año de la Facultad de Odontología de la Universidad
de Chile Josefa Retamal Martínez .



Manela Olave G. / Mamá
Firma del Paciente o representante legal
(en caso de ser menor de edad) 15 años

13/04/2012
Fecha