법랑질에 대한 total etching과 self-etching 접착제의 산부식 효과와 미세인장결합강도

오선경 · 허 복* · 김현철
부산대학교 치과대학 보존학교실

ABSTRACT

THE ETCHING EFFECTS AND MICROTENSILE BOND STRENGTH OF TOTAL ETCHING AND SELF-ETCHING ADHESIVE SYSTEM ON UNGROUND ENAMEL

Sun-Kyong Oh, Bock Hur *, Hyeon-Cheol Kim
Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Pusan National University

The purpose of this study was to evaluate the etching effects and bond strength of total etching and self-etching adhesive system on unground enamel using scanning electron microscopy and microtensile bond strength test.

The buccal coronal unground enamel from human extracted molars were prepared using low-speed diamond saw. Scotchbond Multi-Purpose (group SM), Clearfil SE Bond (group SE), or Adper Prompt L-Pop (group LP) were applied to the prepared teeth, and the blocks of resin composite (Filtek Z250) were built up incrementally. Resin tag formation was evaluated by scanning electron microscopy, after removal of enamel surface by acid dissolution and dehydration. For microtensile bond strength test, resin-bonded teeth were sectioned to give a bonded surface area of $1mm^2$. Microtensile bond strength test was perfomed.

The results of this study were as follows.

1. A definite etching pattern was observed in Scotchbond Multi-Purpose group.
2. Self-etching groups were characterized as shallow and irregular etching patterns.
3. The results (mean) of microtensile bond strength were SM; 26.55 MPa, SE; 18.15 MPa, LP; 15.57 MPa. SM had significantly higher microtensile bond strength than SE and PL ($p < 0.05$), but there was no significant differance between SE and PL. 〔J Kor Acad Cons Dent 29(3):273-280, 2004〕

Key words : Etching effect, Microtensile bond strength, Total etching, Self etching, Enamel, Scanning electron microscopy

Ⅰ. 서 론

1955년 Buonocore[1)]에 의해 레진 접착이 시작된 이래로 새로운 많은 접착 시스템이 개발되어 왔다. 최근 사용되고 있는 접착 시스템은 상아질의 도말층 처리 방법에 따라 두 가지로 분류할 수 있는데 그 하나는 도말층을 완전히 제거하는 방식이고, 다른 하나는 도말층이 존재하는 상아질에 산성 레진을 침투시켜 접착을 시도하는 도말층 용해 방식이다[2)]. Self-etching 상아질 접착제는 etching과 priming과

* Corresponding author: **Bock Hur**

Department of Conservative Dentistry,
College of Dentisty, Pusan National University
1-10 Ami-dong, Seo-gu, Pusan, 602-739, Korea
Tel : 82-51-240-7454
E-mail : bhur@pusan.ac.kr

정을 동시에 시행하는 도말층 용해 방식으로, 이는 수세과정이 생략되므로 술식이 간단하고, 시술 시간이 단축되며, 수세와 건조 과정에서 일어날 수 있는 술자에 의한 과도한 습윤이나 과도한 건조의 가능성이 없어 균일한 결합력을 얻을 수 있다는 장점이 있다[3,4].

법랑질 접착은 표면을 산처리하였을 때 부식에 의해 나타나는 미세한 함몰 부분에 unfilled resin이 흘러들어 가서 미세기계적 결합을 하는 방식이므로 법랑질에 대한 접착력은 법랑질 표면에 형성된 함몰 형태의 형성 정도에 좌우된다고 알려져 있다[1]. 대부분의 연구에서 도말층 용해 방식을 사용할 경우 삭제된 법랑질과 삭제되지 않은 법랑질 모두에서 얕고 불규칙한 산부식 양상이 관찰된다고 하였다[5-10]. 그러나 법랑질에서 도말층 용해 방식을 사용할 때의 결합력에 대해서는 여러 연구에서 결과가 일치하지 않았다. Torii 등[5]은 삭제된 법랑질에서 total etching 접착제와 self-etching 접착제 사용시 산부식 양상은 차이가 있으나, 결합력에는 차이가 없다고 하였고 Kanemura 등[11]은 삭제된 법랑질에서는 결합력 차이가 없으나 삭제되지 않은 법랑질에서는 차이가 있다고 하였다. Ibarra 등[12]은 삭제되지 않은 법랑질과 삭제된 법랑질 모두에서 total etching 접착제를 사용한 경우와 self-etching 접착제를 사용한 경우에서 결합력에 차이가 없다고 하였으나, Perdigao 등[10]은 삭제유무와 관계없이 self-etching 접착제를 사용하였을 경우에 total-etching 접착제를 사용했을 때보다 낮은 결합력을 보인다고 하였다.

법랑질 결합은 수복물의 수명에 영향을 주는 중요한 요소중 하나이다. 법랑질 변연에서 변연봉쇄가 실패하게 되면 구강내 타액과 세균이 침입할 수 있는 변연누출이 생기게 된다[5]. 이로 인해 발생하는 변연부 변색과 재발성 우식이 resin composite 수복물을 재수복하게 되는 가장 흔한 원인이기 때문이다[13,14]. 임상에서는 삭제된 법랑질뿐만 아니라 삭제되지 않은 법랑질도 결합면으로 사용되어진다. Opdam 등[15]의 연구에 의하면, Ⅱ급 와동 resin composite 수복시에 43%에서 수복물이 치경부 변연 넘어 삭제되지 않은 법랑질로 과연장되어진다고 한다. 그리고 레진수복을 위한 모든 변연에 bevel이 형성되어 지는 것은 아니므로 bevel이 형성되지 않은 법랑질 변연의 변연 누출 예방과[10], 소와열구 전색제의 유지를 위해서는 삭제되지 않은 법랑질에서의 적절한 결합이 중요하다[11].

이에 본 실험에서는 상아질 처리 방식과 적용단계가 다른 3종류의 접착제를 삭제되지 않은 법랑질에 적용하여 법랑질 표면의 산부식 효과를 주사전자현미경으로 관찰하고, 미세인장결합강도를 측정하였다. 이렇게 하여 삭제되지 않은 법랑질에서 3단계 도말층 제거방식의 접착제와 단순화된 self-etching 접착제의 산부식 효과가 미세인장결합강도에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다.

Ⅱ. 연구재료 및 방법

최근에 발거된 우식과 수복물이 없는 10개의 상,하악 대구치를 사용하였다. 각 치아의 표면을 청소하고, 치근을 백악법랑경계부위에서 제거한 후, 근원심 방향으로 치아 장축 방향에 평행하게 절단하여 그 협측 치관부만을 사용하였다. 실험에 사용된 상아질 접착제 (Table 1)로는 three-step, total etching system인 Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE, Dental Products, St Paul, MN, U.S.A.), two-step, self-etching system인 Clearfil SE bond (Kuraray, Osaka, Japan), 그리고 one-step, self-etching system인 Adper Prompt L-Pop (3M ESPE)을 사용하였고, 충전용 레진으로는 Filtek Z250 (3M ESPE)을 사용하였다. 상아질 접착제의 종류에 따라 실험군을 SM 군 (Scotchbond Multi-Purpose), SE 군 (Clearfil SE bond), 그리고 LP 군 (Adper Prompt L-Pop)으로 분류하였다.

1. 주사전자현미경적 관찰

절단된 4개의 협측 치관부를 다시 각각 3등분하여 1개 치아당 3개씩 총 12개의 법랑질 절편을 제작하였다. 동일한 치관의 법랑질 시편이 각 실험군에 사용되도록 각 치아의 협측 치관부 절편 3개를 각 실험군에 1개씩 배당하여 각 군당 4개씩의 법랑질 절편을 사용하였다.

제조회사의 지시에 따라 Table 2와 같은 방법으로 각 군의 상아질 접착제를 사용하였고, 광중합레진 (Filtek Z250)을 사용하여 충전하고 40초간 광중합하였다. 24시간 경과한 후 시편을 질산에 24시간 담구어 치질을 용해시켜 제거하고, 세척하였다. 이후 시편을 70%, 80%, 90%, 100% ethyl alcohol에 차례대로 담구어 탈수시켰다.

탈수시킨 시편은 주사전자현미경 관찰을 위해 aluminum stub에 고정시킨 후, gold-palladium으로 표면 처리하였다. 처리된 시편을 주사전자현미경 (HITACHI S-4200, Japan)을 사용해서 300~5000배의 비율로 resin tag의 형태를 관찰함으로써 산부식 정도를 파악하였다.

2. 미세인장결합강도 측정

6개의 협측 치관부를 무작위로 2개씩 3개의 군으로 분류하였다. 각 군의 상아질 접착제를 제조회사의 지시에 따라 Table 2와 같은 방식으로 사용하였고, 광중합레진 (Filtek Z250)을 사용하여 10mm 높이로 적층 충전하고 40초씩 광중합하였다.

주수하에 low-speed diamond saw를 이용하여 가로, 세로 1.0 × 1.0 mm^2의 막대모양의 절편이 되도록 절단하여,

Table 1. Composition of three dentin bonding systems

Dentin bonding system	Etchant	Primer	Adhesive resin
Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE)	Phosphoric acid (35%), Silica, Water	HEMA, polyalkenoic acid copolymer, Water	Bis-GMA, HEMA, Photoinitiator
Clearfil SE Bond (Kuraray)	-	MDP, HEMA Hydrophilic dimethacrylate, Camphorquinone, N,N-Diethanol p-toluidine, Water	MDP, Bis-GMA. HEMA, Hydrophobic dimethacrylate, Camphorquinone, N,N-Diethanol p-toluidine, Microfiller
Adper Prompt L-Pop (3M ESPE)	-	Liquid 1 Methacrylated phosphoric esters, Bis-GMA, Initiators based on camphorquinone, Stabilizers Liquid 2 Water, HEMA, Polyalkenoic acid, Stabilizers	-

Table 2. Procedures of bonding agent application

Dentin bonding system	Procedures
Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE)	a) Dry enamel. b) Apply etchant for 15s; rinse for 15s. c) Dry thoroughly. d) Apply adhesive with a brush. e) Light cure for 10s.
Clearfil SE bond (Kuraray)	a) Dry enamel. b) Apply primer. Avoid pooling. c) Leave for 20s. d) Air dry with mild air flow. e) Apply bond to entire surface. f) Air thin slightly. g) Light cure for 10s.
Adper Prompt L-Pop (3M ESPE)	a) Dry enamel. b) Apply PL to entire surface. c) Rub for 15s. d) Air dry. if surface does not appear shiny, reapply. e) Light cure for 10s.

enamel-resin stick을 제작하였다. 제작된 시편을 미세인장결합강도 측정기 (Micro Tensile Tester, Bisco, U.S.A.)에 위치시키고, 각 끝을 Cyanoacrylate (Zapit, dental venture of america, U.S.A.)를 적용하여 고정하고 난 뒤, 인장력을 가하여 시편이 분리될 때 측정값 (load)을 기록하였다.

3. 통계 처리

개별 실험군의 미세인장결합강도에 대한 평균값과 표준편차를 환산한 뒤 군간의 통계학적 유의성을 One-Way ANOVA를 이용하여 분석하였고, 사후 감정은 Duncan's Multiple Range Test를 이용하여 시행하였다.

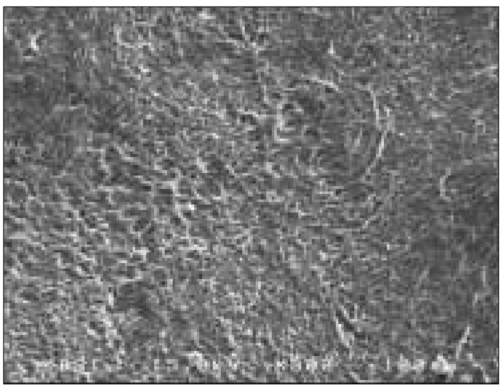
Ⅲ. 연구결과

1. 주사전자현미경적 관찰

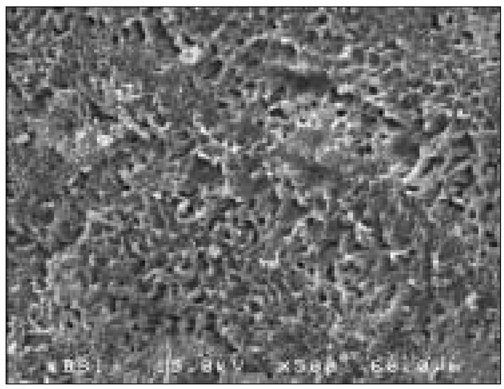
산부식으로 만들어진 법랑질의 미세다공성 구조 안으로 침투된 resin에 의해서 형성된 resin replica를 관찰하여 법랑질의 부식 정도를 볼 수 있었다. 각 실험군 별로 형성된 resin tag의 형태를 관찰한 결과는 다음과 같다.

1) SM 군

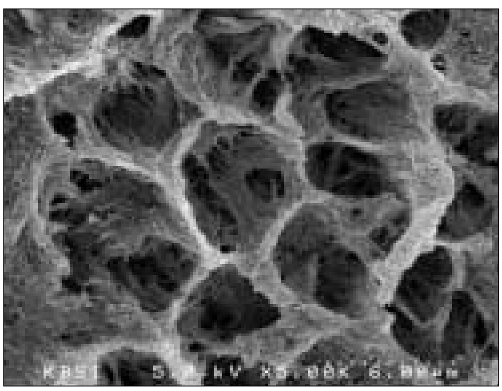
시편들의 전 표면에서 뚜렷하고 명확한 resin tag를 관찰할 수 있었다 (Figure 1-a, b). 전형적인 부식양상으로서 법랑소주의 중심이 용해된 type 1과 법랑소주의 변연부가 용해된 type 2 (Figure 1-c), 그리고 무수한 다공성의 표면



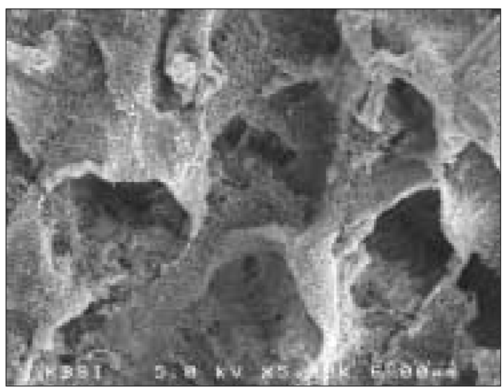
a (×300)



b (×500)



c (×5000)



d (×5000)

Figure 1. The SEM photographs of resin replica using Scotchbond Multi-Purpose

으로 관찰되는 type 3 (Figure 1-d)가 모두 관찰되었다. 그중 type 2와 type 3이 대부분이었다.

2) SE 군

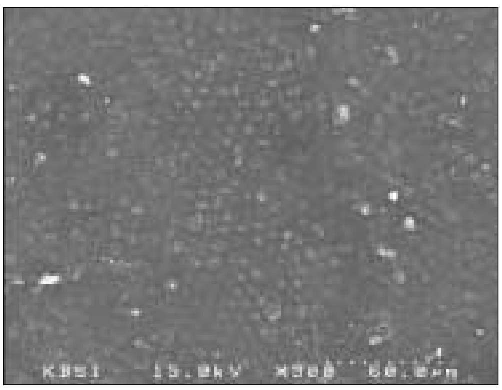
SM 군과는 전혀 다른 resin tag 양상이 관찰되었다. 일부 표면은 resin tag가 거의 관찰되지 않거나 짧고 불규칙한 resin tag의 형성이 보였다 (Figure 2-a, b). 부식양상이 관찰되는 부분에서는 type 3 (Figure 2-c)도 종종 관찰되었으나, 대부분은 깊이가 아주 얕은 type 1 (Figure 2-d)의 부식 양상을 나타내었다.

3) PL 군

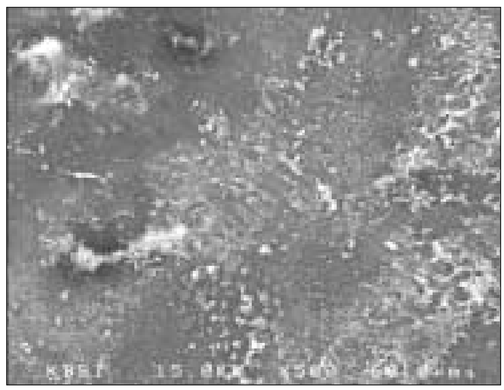
일부분은 resin tag가 거의 관찰되지 않거나 짧고 불규칙한 resin tag의 형성이 관찰되었다. SE 군과 유사한 소견이었으나 SE 군보다 resin tag가 조금 더 뚜렷하게 관찰되었다 (Figure 3-a, b). 깊이가 얕은 type 1 (Figure 3-c)과 type 2 (Figure 3-d)의 부식 양상이 관찰되었다.

2. 미세인장결합강도

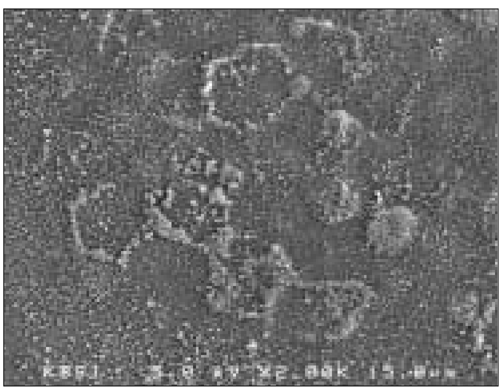
각 실험군당 미세인장결합강도의 평균은 Table 3과 같으며, SM 군은 26.55 MPa, SE 군은 18.15 MPa, 그리고 PL 군은 15.57 MPa이었다. 35% 인산을 이용한 SM 군에 비해 self-etching system을 사용한 SE 군과 PL 군의 미세인장결합강도는 명확하게 낮은 수치를 보였다 ($P < 0.05$). 반면, self-etching system을 사용한 두 군 (SE 군, PL 군)사이에서는 미세인장결합강도에 대한 유의한 차이가 없었다.



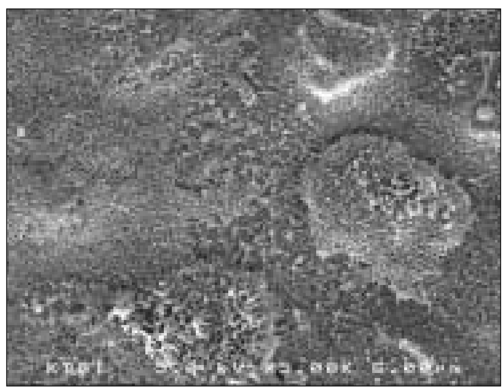
a (×500)



b (×500)

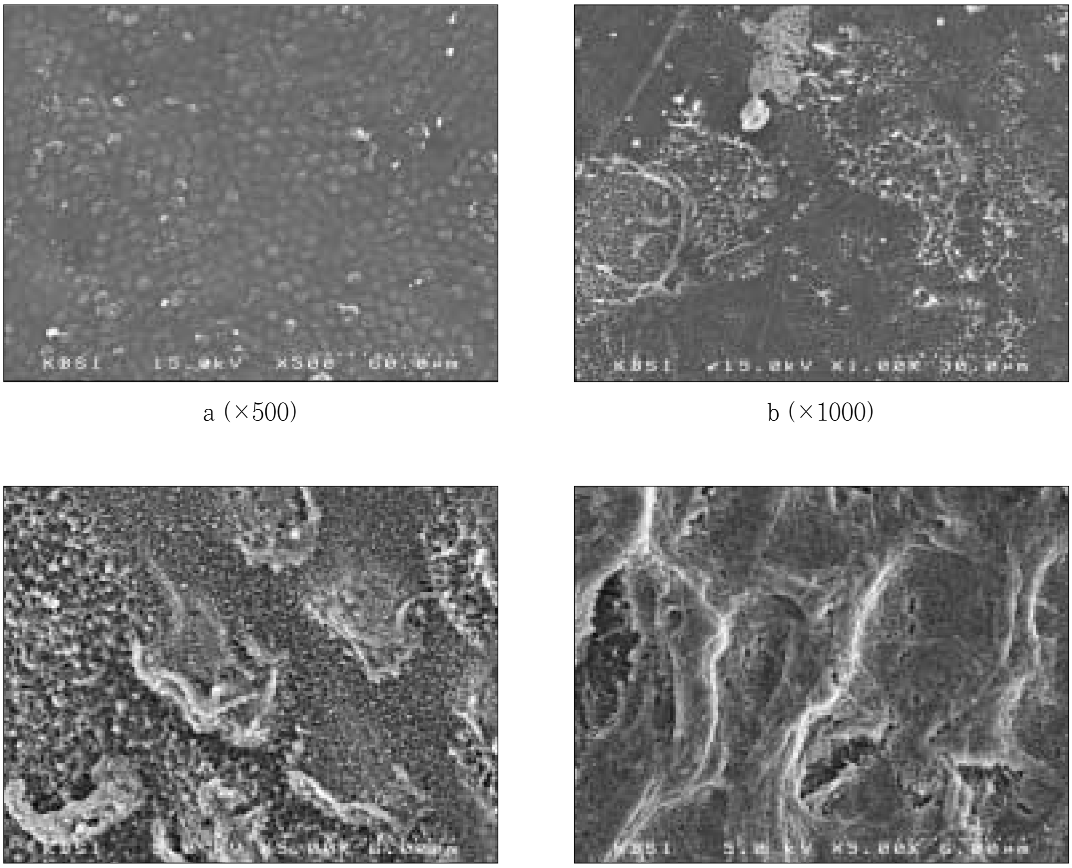


c (×2000)



d (×5000)

Figure 2. The SEM photographs of resin replica using Clearfil SE Bond



a (×500) b (×1000)

c (×5000) d (×5000)

Figure 3. The SEM photographs of resin replica using Adper Prompt L-Pop

Table 3. Microtensile bond strengths(MPa, Mean ± SD)

Groups	No. of Specimens	Microtensile bond strength
SM	24	26.55 ± 6.23
SE	22	18.15 ± 4.97
PL	22	15.57 ± 3.89

Ⅳ. 총괄 및 고찰

삭제되지 않은 법랑질에서의 결합력은 변연누출을 예방하는데 중요한 역할을 하고 소와 열구 전색제의 유지를 위해서도 중요한 요소이므로 Kanemura 등[11]은 total etching 접착제와 self-etching 접착제가 삭제되지 않은 법랑질 표면의 부식양상과 결합력에 미치는 영향을 비교하였는데, self-etching 접착제의 경우에는 전형적인 산부식 양상을 관찰할 수 없었으며 결합력이 낮게 나타나서 삭제되지 않은 법랑질에서는 self-etching 접착제의 부식효과가 미흡하다고 하였다. 그리고 total etching 접착제의 사용 시에는 전형적인 산부식 양상이 나타나지만 self-etching 접착제 사용 시에는 법랑질에 대한 산의 작용이 충분하지 못하여 거의 산부식 양상을 관찰할 수 없다고 보고되었다[16,17]. 본 실험에서 산부식 효과의 평가를 위해 resin tag를 주사전자현미경으로 관찰하였을 때 total etching 접착제를 사용한 SM 군에서는 대부분의 시편에서 뚜렷하고 명확한 resin tag를 관찰할 수 있었으며, Retief[18]가 언급한 전형적인 산부식 양상의 3가지 유형이 모두 관찰되었다. Self-etching 접착제를 사용한 SE 군과 PL 군의 주사전자현미경 관찰시 두군 모두 SM 군에 비해 산부식 양상이 명확하지 않아서 더 짧고 불규칙한 resin tag가 관찰되었고, 일부분은 resin tag가 거의 관찰되지 않아서 이전의 연구결과들과 유사하였다[5-10,11,16,17].

이번 실험에서 미세인장결합강도의 측정결과 뚜렷한 산부

식 양상을 나타내었던 SM 군은 26.55 MPa의 높은 결합강도를 나타낸 반면, 약하고 불규칙한 산부식 양상을 나타내었던 self-etching 접착제인 SE 군은 18.15 MPa을 나타냈고, PL 군은 15.57 MPa의 낮은 결합강도를 나타냈다. SM 군에 비해 self-etching primer를 사용한 두 군 (SE 군, PL 군)의 결합력은 낮은 수치를 나타냈고, self-etching 접착제를 사용한 두 군 (SE 군, PL 군) 사이에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 이 결과는 삭제되지 않은 법랑질에서 인산으로 산부식한 total etching 접착제는 높은 결합강도를 나타내지만, self-etching 접착제는 낮은 결합강도를 나타낸다는 Kanemura 등[11]과 Pashley 등[19]의 연구와도 일치하였다.

삭제되지 않은 법랑질은 삭제된 법랑질에 비해 과광화되어있고, 더 높은 불소를 함유하고 있다[11]. 그리고 유치와 영구치 모두에서 법랑질 표면의 무소주 법랑질층의 존재가 보고되어 있으며[20,21], 이런 층은 산부식에 의한 효과가 상대적으로 작게 나타난다고 보고되었다[22]. 이런 무소주 법랑질의 산부식 양상은 사용된 산의 세기와 부식 시간에 좌우되므로[23], 인산과 같이 더 강한 산을 사용하면 법랑질에서 무기질의 더 효과적인 용해와 제거가 이루어진다[12]. 이번 실험에 사용한 두 가지 self-etching 접착제의 산성도는 수산화인회석과 불화인회석의 탈회를 위한 임계산도가 pH 5.5와 pH 4.5라는 것을 생각해 볼 때, 법랑질을 탈회시키기에 충분한 산도인 것으로 생각된다[24]. 그러나 self-etching 접착제에 의한 탈회 시에는 primer의 산성이 법랑질에서 점차 중화되기 때문에 점진적으로 탈회가 멈추어진다고 하였다[25,26]. 그리고 제조회사에서 추천하는 적용 시간은 법랑질의 적절한 탈회를 위해서는 짧은 것으로 생각된다[5]. 이런 두꺼운 무구조 법랑질층은 self-etching primer와 bonding agent의 침투를 막을 것이고, 따라서 일부 부분은 부분적으로 탈회되지 않은 채로 남을 것이다[27]. 삭제되지 않은 법랑질에서 self-etching 접착제의 부적절한 산부식 능력은 미세다공성 구조로 adhesive resin의 부족한 침투를 야기하여 결합력 감소를 유발할 것이다[11].

본 연구를 통하여 삭제되지 않은 법랑질에서 total etching 접착제는 뚜렷하고 명확한 산부식 양상을 보여주며, 높은 미세인장결합강도를 나타내는 반면에, self-etching 접착제는 약하고 불규칙한 산부식 양상과 낮은 결합력을 나타냄을 알 수 있었다. 그러므로 삭제되지 않은 법랑질에서의 self-etching 접착제의 효과에 대해 재평가해 볼 필요가 있다.

Ⅴ. 결 론

본 연구의 목적은 주사전자현미경을 이용한 산부식 효과의 관찰과 미세인장결합강도의 측정을 통해서 삭제되지 않은 법랑질에서 total etching과 self-etching 접착제의 산부식 효과가 미세인장결합강도에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다.

발거된 사람의 대구치 협측 치관부 절편을 형성하고 그 절편에 Scotchbond Multi-Purpose (SM 군), Clear-fil SE Bond (SE 군), 그리고 Adper Prompt L-Pop (PL 군)을 사용하여 각각 수복하였다. 산부식 효과 관찰을 위해서 법랑질을 질산을 이용하여 용해시켜 제거하고 탈수시킨 후 형성된 resin tag를 주사전자현미경으로 관찰하였다. 또한 각각의 상아질 접착제에 따른 실험군들의 미세인장결합강도를 측정하여 비교한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 인산으로 부식한 SM 군에서는 뚜렷하고 명확한 산부식 양상이 나타났다.
2. Self-etching 접착제를 사용한 SE 군과 PL 군에서는 약하고 불규칙적인 산부식 양상이 나타났다.
3. 미세인장결합강도를 측정한 결과 SM 군은 26.55 MPa, SE 군은 18.15 MPa, 그리고 PL 군은 15.57 MPa이었으며, SM 군은 self-etching 접착제를 사용한 두 군 (SE 군, PL 군)에 비해 명확하게 높은 결합력을 나타내었으나 ($P < 0.05$), self-etching 접착제를 사용한 SE 군과 PL 군 사이에서는 유의한 차이가 없었다.

참고문헌

1. Bounocore M. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 34:849-853, 1995.
2. Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. Review. *J Dent* 26(1):1-20. 1998.
3. Bouillaguet S, Gysi P, Wataha JC, Ciucchi B, Cattani M, Godin Ch, Meyer JM. Bond strength of composite to dentin using conventional, one-step, and self-etching adhesive systems. *J Dent* 29:55-61, 2001.
4. Perdogão J, Lopes M. Dentin Bonding-Questions for the new millennium. *J Adhes Dent* 1:191-209, 1999.
5. Torii Y, Itou K, Hikasa R, Iwata S, Nishitani Y. Enamel tensile bond strength and morphology of resin-enamel interface created by acid etching system with or without moisture and self-etching priming system. *J Oral Rehabil* 29(6):528-533, 2002.
6. Hannig M, Bock H, Bott B, Hoth-Hannig W. Inter-crystallite nanoretention of self-etching adhesives at enamel imaged by transmission electron microscopy. *Eur J Oral Sci* 110(6):464-70, 2002.
7. Hayakawa T, Kikutake K, Nemoto K. Influence of self-etching primer treatment on the adhesion of resin composite to polished dentin and enamel. *Dent Mater* 14(2):99-105, 1998.
8. Hannig M, Reinhardt KJ, Bott B. Self-etching primer vs phosphoric acid: an alternative concept for composite-to-enamel bonding. *Oper Dent* 24(3):172-180, 1999.
9. Perdigao J, Lopes L, Lambrechts P, Leitao J, Van Meerbeek B, Vanherle G. Effects of a self-etching

primer on enamel shear bond strengths and SEM morphology. *Am J Dent* 10(3):141-146, 1997.
10. Perdigao J, Geraldeli S. Bonding characteristics of self-etching adhesives to intact versus prepared enamel. *J Esthet Restor Dent* 15(1):32-41, 2003.
11. Kanemura N, Sano H, Tagami J. Tensile bond strength to and SEM evaluation of ground and intact enamel surfaces. *J Dent* 27:523-530, 1999.
12. Ibarra G, Vargas MA, Armstrong SR, Cobbb DS. Microtensile bond strength of self-etching adhesives to ground and unground enamel. *J Adhes Dent* 4(2):115-124, 2002.
13. Friedl KH, Hiller KA, Schmalz G. Placement and replacement of composite restorations in Germany. *Oper Dent* 20(1):34-38, 1995.
14. Mjor IA, Qvist V. Marginal failures of amalgam and composite restorations. *J Dent* 25(1):25-30, 1997.
15. Opdam NJ, Roeters FJ, Feilzer AJ, Smale I. A radiographic and scanning electron microscopic study of approximal margins of Class II resin composite restorations placed in vivo. *J Dent* 26(4):319-327, 1998.
16. Kugel G, Ferrari M. The science of bonding: from first to sixth generation. Review. *J Am Dent Assoc* 131 Suppl:20S-25S, 2000.
17. Hayakawa T, Kikutake K, Nemoto K. Related Articles, Influence of self-etching primer treatment on the adhesion of resin composite to polished dentin and enamel. *Dent Mater* 14(2):99-105, 1998.
18. Retief DH. Clinical applications of enamel adhesives. Review. *Oper Dent Suppl* 5:44-49, 1992.
19. Pashley DH, Tay FR. Aggressiveness of contemporary self-etching adhesives. Part II: etching effects on unground enamel. *Dent Mater* 17(5):430-444, 2001.
20. Ripa LW, Gwinnett AJ, Buonocore MG. The 'prismless' outer layer of deciduous and permanent enamel. *Arch Oral Biol* 11:41-48, 1966.
21. Whittaker DK. Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol* 27(5):383-92, 1982.
22. Nathanson D, Bodkin JL, Evans JR. SEM of etching patterns in surface and subsurface enamel. *J Pedod* 7(1):11-7,1982.
23. Cehreli ZC, Altay N. Effects of a non-rinse conditioner and 17% ethylenediaminetetraacetic acid on the etch pattern of intact human permanent enamel. *Angle Orthodont* 70:22-27, 2000.
24. Mcintyre J. The nature and progression of dental caries. In:*Preservation and Restoration of Tooth Structure*(eds G. J. Mount & W.R. Hume), p. 9. Mosby Inernational Ltd, London. 1998.
25. Itou K, Torii Y, Suzuki K, Inoue K. Adhesion of restorative resin to tooth-adhesion promotes by Liner Bond Ⅱ. *Adhesive Dent* 12:174, 1994.
26. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. J Dent 25(5):355-372, 1997.
27. Gwinnett AJ. The ultrastructure of the "prismless" enamel of permanent human teeth. Arch Oral Biol 12(3):381-388, 1967.