

PİT VE FISSÜR ÖRTÜCÜLERİN ALTINA ANTİBAKTERİYEL BONDİNG AJAN UYGULAMANIN MİKROSIZINTI VE BAĞLANMA DAYANIMI ÜZERİNE ETKİSİ

EFFECTS OF AN ANTIBACTERIAL BONDING AGENT UNDER FISSURE SEALANT APPLICATIONS ON MICROLEAKAGE AND SHEAR BOND STRENGTH

¹Murat Selim BOTSALI, ²Yasin YILDIRIM, ^{3*}Mustafa ALTUNSOY,
⁴Yağmur ŞENER

¹Yrd. Doç. Dr., Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, KONYA.

²Dr., Özel Turkuaz Ağız ve Diş Sağlığı Kliniği, BURSA.

³Yrd. Doç. Dr., Şifa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, İZMİR.

⁴Prof. Dr., Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, KONYA.

Özet

Bu çalışmanın amacı antibakteriyel monomer içerikli bonding ajanın fissür örtücülerin bağlanma dayanımı ve mikrosızıntısı üzerine etkisinin incelenmesidir.

Çalışmada bağlanma dayanımı için 40 adet ve mikrosızıntı değerlendirilmesi için 40 adet olmak üzere toplam 80 adet çürüksüz, yeni çekilmiş insan molar dişi kullanıldı. Dişler, rastgele 4 gruba ayrıldı (n=20). Kontrol gruplarında, asitlenmiş mine yüzeyine fissür örtücü materyal (Fissürüt FX, Voco, GmbH, Cuxhaven, Germany) uygulanarak polimerize edildi. Çalışma gruplarında ise asitlenmiş mine yüzeyine Clearfil Protect Bond üreticinin tavsiyeleri doğrultusunda uygulandıktan sonra Fissurit FX materyali uygulanarak polimerize edildi. Yapay yaşlandırma işlemi uygulandıktan sonra bağlanma dayanımı değeri universal test cihazı kullanılarak ölçüldü. Mikrosızıntının değerlendirilmesi ise boya penetrasyonu yöntemiyle yapıldı. İstatistiksel analizde Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Kontrol ve çalışma gruplarının mikrosızıntı ve bağlanma değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0.05).

Pit ve fissür örtücüsünün altına antibakteriyel monomer içeren adeziv uygulamanın fissür örtücüsünün mikrosızıntı ve makaslama bağlanma dayanımını olumsuz etkilemediğinden antibakteriyel etkinlik bakımından yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Pit ve fissür örtücü, kayma mukavemeti, dental sızıntı, antibakteriyel ajanlar.

Abstract

The purpose of this study was to examine the effects of using an antibacterial bonding agent under pits and fissure sealants on shear bond strength (SBS) and microleakage.

A total of 80 (40 teeth for shear bond strength and 40 teeth for microleakage assessment) freshly extracted non-carious human molar teeth were chosen. The teeth were randomly assigned to four groups, with 20 teeth in each group. Group 1 and 2 (control groups) the Fissurit FX was applied to the etched and dried enamel; group 3 and 4 Clearfil Protect Bond was applied onto the etched enamel and light-cured then Fissurit FX was applied and light-cured. SBS was tested to failure in a universal testing machine with a 1mm/min crosshead speed and microleakage was evaluated using a dye penetration method after thermocycling. The datas were analyzed using the Mann-Whitney U test.

There were no statistically significant differences among groups for microleakage and SBS (p>0.05).

It was thought that the use of an antibacterial monomer containing adhesive systems may provide antibacterial activity under pit and fissure sealant.

Key words: Pit and fissure sealant, shear strength, dental leakage, antibacterial agents.

Giriş

Dişlerin çiğneyici yüzeyleri üzerindeki pit ve fissürler diş çürüğü açısından riskli anatomik oluşumlardır. Okul çağındaki çocuklarda tespit edilen çürüklerin % 88'inin bu

bölgelerde olduğu bildirilmiştir (1,2). Bu bölgelerden kaynaklanan çürüğün önlenmesinde en etkin yöntem pit ve fissür örtücülerin uygulanmasıdır. Koruyucu diş hekimliğinin temel yöntemlerinden biri olan pit ve fissür örtücüler, çiğneyici yüzey çürüklerinin önlenmesi amacıyla gelişmiş ülkelerde giderek artan bir şekilde kullanılmaktadır (3).

Pit ve fissür örtücülerin başarısını kullanılan restoratif materyal, uygulama tekniği ve hasta uyumu etkilemektedir. Retansiyon ve mikrosızıntı fissür örtücülerin başarısındaki en önemli kriterlerdir. Uygulama yapılacak olan

*İletişim Adresi

Dr. Mustafa ALTUNSOY
Şifa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti Anabilim Dalı, Bayraklı, İzmir

Tel: 0232 486 41 40
e-mail: dtaltunsoy@gmail.com

mine dokusunun asitle pürüzlendirilmesi pit ve fissür örtücülerin uygulanmasındaki ilk basamaktır. Bu işlem uzun yıllardan beri standart olarak kullanılmaktadır (4). Literatürde fissür örtücülerin başarısını arttırmak amacıyla farklı sürelerde asitleme yapılmış olup optimum asitleme süresinin istenilen yeterli etkiyi sağlayan minimum süre olması gerektiği savunulmaktadır (5,6). Pit ve fissür örtücülerin klinik başarısını arttırmak için tavsiye edilen diğer bir yöntem de asitle pürüzlendirme sonrasında mine yüzeyine bağlayıcı ajanların uygulanmasıdır. Yapılan çalışmalarda, bağlayıcı ajanların pit ve fissür örtücülerin mineye bağlanmasını arttıran ve kenar sızıntısını azaltan etkilerinin olduğu bildirilmiştir (7-9). Daha güvenilir sonuçlar elde edebilmek için ağız içerisindeki termal değişikliklerin taklit edildiği laboratuvar test düzenekleri kullanılabilmektedir (10).

Kullanılan materyallerin antibakteriyel özelliği diş çürüğünü önlemede önemli bir sstratejidir. İçeriğinde antibakteriyel 12-methacryloyloxydodecylpyridinium (MDPB) monomer bulunan dentin bonding sistemler özellikle mine marjinde oluşacak diş çürüğünü engellemektedir (11,12). Bu yüzden içeriğinde antibakteriyel monomer bulunan adezivlerin fissür örtücülerin altında kullanımı avantaj sağlayabilmektedir. Bu çalışmada antibakteriyel monomer içerikli bir bonding ajanın fissür örtücülerin bağlanma dayanımı ve mikrosızıntısı üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

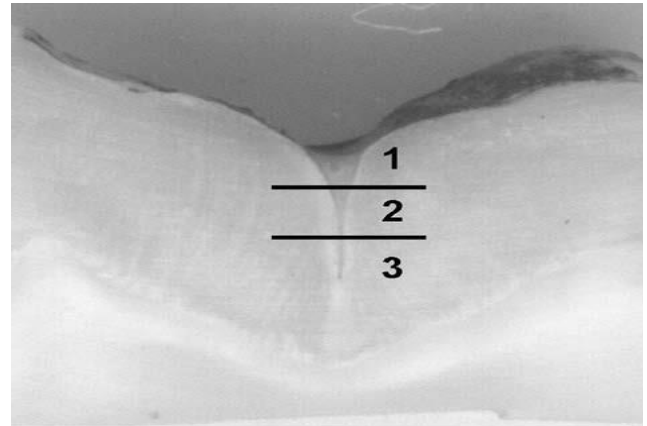
Yöntem ve Gereç

Mikrosızıntının Değerlendirilmesi

Mikrosızıntının belirlenebilmesi için 40 adet çürüksüz insan molar dişi kullanıldı. Dişler çalışma zamanına kadar salin solüsyonunda bekletildikten sonra rastgele iki gruba ayrıldı (n=20).

Dişler üzerindeki eklentiler uzaklaştırıldıktan sonra pomza ve lastik kullanılarak temizleme işlemi gerçekleştirildi. Tüm örnekler %37' lik ortofosforik asit kullanılarak 15 saniye süreyle asitleme işlemi uygulandı. Kontrol grubundaki dişlere mine yüzeyine asit uygulamasını takiben üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda fissür örtücü (Fissürit FX, Voco, GmbH, Cuxhaven, Almanya) uygulandı ve polimerize edildi. Çalışma grubunda ise asit uygulamasını takiben antibakteriyel bonding ajanı (Clearfil Cilt / Volume 16 · Sayı / Number 1 · 2015

Protect Bond, Kuraray, Japonya) üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda uygulandıktan sonra fissür örtücü (Fissürit FX, Voco, GmbH, Cuxhaven, Almanya) uygulanıp LED ışık kaynağı (Elipar s10, 3M ESPE, Australia) kullanılarak polimerize edildi. Örnekler, termal siklus cihazında (Nova Tic, Konya, Türkiye) 5 ± 2 °C'de 30 sn ve 55 ± 2 °C'de 30 sn olmak üzere 1000 kez işleme tabi tutularak yapay yaşlandırma işlemi gerçekleştirildi. Mikrosızıntı değerlerini etkilememesi için dişlerin apikal foramenleri mum ile kapatıldı. Daha sonra dişler %5'lik bazik fuksin boya solüsyonu içerisinde 24 saat bekletildi. Bu sürenin sonunda dişler fazla boyayı uzaklaştırmak için su ile yıkandı. Her diş, yavaş turda dönen elmas separe ile bukkolingual yönde longitudinal olarak kesildi. Mikrosızıntı değerlendirmesi için her diştten 3 kesit alındı. Boya penetrasyon derinliğini stereomikroskop (X40) altında skorlandı. Her kesitteki en yüksek skor final skor olarak kaydedildi. Mikrosızıntı skorları Şekil 1' deki kriterlere göre belirlendi (13). Veriler Mann-Whitney U testine tabi tutularak istatistiksel analiz yapıldı.



Şekil 1. Mikrosızıntı için skor kriterleri

- 0: Boya penetrasyonu yok
1: Boya penetrasyonu mine-sealant ara yüzünün okluzal 1/3'ünde
2: Boya penetrasyonu mine-sealant ara yüzünün orta üçlüsünde
3: Boya penetrasyonu mine-sealant ara yüzünün apikal 1/3'ünde

Bağlanma Dayanımının Değerlendirilmesi

Çalışmada fissür örtücünün bağlanma dayanımının belirlenebilmesi için 40 adet

çürüksüz, yeni çekilmiş insan molar diş kullanıldı. Dişler çalışma zamanına kadar salin solüsyonunda bekletildi. Dişler rastgele iki gruba ayrıldı (n=20). Yumuşak doku artıkları ve diş taşları uzaklaştırıldıktan sonra dişler pomza ve lastik kullanılarak temizlendi. Dişlerin kökleri su soğutması altında elmas bir separe ile kuronlarından ayrıldı. Kesilerek hazırlanan dişlerin açıkta kalması planlanan bukkal mine yüzeyleri tabaka muımlara 1 mm kadar gömüldü. Bu şekilde hazırlanan dişlerin üzerlerine silindirik standart plastik kalıplar yerleştirildi ve içerisine akrilik rezin dolduruldu. Akrilik içerisine gömülerek hazırlanan dişlerin açıkta kalması sağlanmış olan mine yüzeyleri su altında 1000 gritlik bir zımpara kağıdı ile aşındırılarak Ultradent Test Aparatının kullanımına uygun düz bir yüzey elde edildi. Tüm örnekler %37' lik ortofosforik asit kullanılarak 15 saniye süreyle asitleme işlemi uygulandı. Kontrol grubunda sadece asitlenmiş mine yüzeyine, çalışma grubunda ise asitlenmiş mine yüzeyine Clearfil Protect Bond (Kuraray, Japonya) üreticinin tavsiyeleri doğrultusunda uygulandıktan sonra fissür örtücü materyal (Fissürüt FX, Voco, GmbH, Cuxhaven, Germany) test aparatının teflon haznesine (2 mm yüksekliğinde ve 2.38 mm çapında) taşmayacak şekilde doldurulup yüksek yoğunluklu Light Emitting Diode (LED) ışık kaynağı (Elipar s10, 3M ESPE, Australia) kullanılarak 20 saniye süreyle polimerize edildi. Örnekler, termal siklus cihazında (Nova Tic, Konya, Türkiye) 5±2 °C'de 30 sn ve 55±2 °C'de 30 sn olmak üzere 1000 kez işleme tabi tutularak yapay yaşlandırma işlemi gerçekleştirildikten sonra bağlanma dayanımı değerleri üniversal test cihazı (Testometric, Lancashire, UK) kullanılarak ölçüldü. Örnekler cihaza alüminyum bir mengene yardımıyla bağlandı ve uygulanan kuvvet her bir örneğin diş/restoratif materyal ara yüzeyine künt, çelik bir uçla iletildi. Üniversal test makinesi ile her bir örneğin diş/restoratif materyal ara yüzeyinde kırılma meydana gelinceye kadar 1 mm/dk hızda kuvvet uygulandı. Her bir örnek için kırılma anındaki kuvvet fissür örtücünün bağlanma yüzey alanına bölünerek Megapaskal (MPa) cinsinden veriler elde edildi. Elde edilen veriler Mann-Whitney U testine tabi tutularak istatistiksel analiz yapıldı.

Bulgular

Mikrosızıntı değerlendirilmesinde kontrol grubu ile çalışma grubu arasında skorlar arasında sayısal fark tespit edildi ancak yapılan istatistiksel analizde bu farkın önemli olmadığı belirlendi (p>0.05). Gruplara ait ölçülen skorlar Tablo 1' de verilmiştir.

Skor	0	1	2	3	Toplam
Kontrol grubu	16	1	2	1	20
Çalışma grubu	11	7	2	0	20

Tablo 1. Gruplara ait mikrosızıntı değerleri

Makaslama bağlanma dayanımı testinde elde edilen verilere ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 2' de gösterilmiştir. İki grup arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

	N	Ortalama±SS
Kontrol grubu	20	7,9±2,7 ^a
Çalışma grubu	20	7,1±2,3 ^a

*Aynı üst simge karakterler, istatistiksel olarak gruplar arasında fark yoktur.

Tablo 2. Gruplara ait makaslama bağlanma dayanımı değerleri (Ortalama±standart sapma) (MPa).

Tartışma

Son yıllarda modern diş hekimliğinin arayışı, çürük riskini azaltma, koruyucu uygulamalar ve diş yapılarının mümkün olduğunca korunduğu minimal invaziv konservatif teknikleri ön plana çıkarmaya yöneliktir (14). Buna bağlı olarak günümüzde çürük prevalansında düşüş görülmekte olup çürüğün biçim ve ilerleme hızı değişikliğe uğramıştır (15,16).

Pit ve fissürlerin oluşturduğu retantif bölgeler, çürük başlaması için elverişli alanlar olup florid uygulamaları bu tür çürükleri engellemede yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle yıllardır koruyucu diş hekimliğinde çürüğe eğilimli bu bölgelerde çürük oluşumunu önlemek amacıyla fissür örtücü uygulamalarından yararlanılmaktadır ve bu

uygulamanın koruyuculuğu birçok çalışmada kanıtlanmıştır (17,18).

Günümüzde pit ve fissür örtücü olarak, ışıkla polimerize olan rezin esaslı materyaller kullanım kolaylığı, fiziksel özelliklerinin yeterli düzeyde oluşu ve uygulamasının kontrollü olması nedeniyle yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bu çalışmada da ışıkla polimerize olan rezin esaslı bir fissür örtücü olan Fissürit FX kullanılmıştır.

Materyalin mine yüzeyine olan bağlantısı ve sızdırmazlığı fissür örtücünün başarısını etkileyen en önemli parametrelerdir (6). *In vitro* çalışmalarda mikrosızıntı için boya penetrasyon yöntemi ve makaslama bağlanma dayanımı ölçümü yaygın olarak kabul görmektedir (19). Bu çalışmada fissür örtücünün fiziksel özelliklerini değerlendirmede bu iki yöntem kullanılmıştır.

Diş hekimliği ile ilgili araştırmalarda özellikle adeziv materyallerin performanslarının değerlendirilmesinde termal siklus uygulaması yaygın olarak kullanılmaktadır. Burada amaç örneklerin değişik sıcaklıklara maruz bırakılarak ağız ortamının sıcaklık değişikliklerini taklit edilmesidir (20). Bu çalışmada ağız ortamındaki sıcaklık değişikliklerinin taklit edilmesi amacıyla örnekler termal siklusa tabi tutulmuştur.

Üretici firmanın talimatları doğrultusunda fissür örtücüyü uygulamadan önce mine yüzeyine pomza profleksisi uygulanmalı ve mine asitlenmelidir. Ülker ve ark. Clearfil Protect Bond' u asitleme yaparak ve asitleme yapmadan lingual retainer kompozitinin bağlanma dayanımına etkisini inceledikleri çalışmada asitlemenin mineye bağlanma dayanımını önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir (21). Bu yüzden bu çalışmada hem kontrol grubunda hem de deney grubundaki diş yüzeyleri asitle pürüzlendirildi.

Bazı araştırmacılar fissür örtücünün diş yüzeyindeki morfolojik retantif alanlara penetrasyonunun arttırılmasıyla başarının arttırılabildiğini ve dolayısıyla fissür örtücüden daha düşük viskoziteli olan doldurucusuz bonding ajanlarının fissür örtücü materyalden daha iyi penetrasyon özelliğinden dolayı fissür örtücünün altına uygulanarak başarıyı arttırabileceğini bildirmişlerdir (22-24). Bazı araştırmacılar ise bu uygulamanın herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir (25,26). Bu çalışmada Clearfil Protect Bond' un Fissürit FX'in mineye olan mikrosızıntı ve makaslama

bağlanım değerleri üzerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı görüldü.

Fissür örtücünün altına antibakteriyel bonding uygulanması pit ve fissürlerin içerisinde kalan veya yapılan fissür örtücünün ilerleyen dönemde sızıntısı ve başarısızlığıyla oluşan karyojenik mikrofloraya antibakteriyel etki göstererek inhibe etmektedir (27). Imazato ve ark. MDPB kopolimerinin polimerizasyondan sonra polimer yapısına kovalent bağ ile bağlandığını ve dışarıya artık monomer olarak salınmadığını bildirmişlerdir. Ancak bu monomerin bağlandığı yüzeydeki bakterileri inhibe ettiğini bildirmişlerdir (28). Yapılan hayvan deneylerinde de MDPB içerikli primer ajanın antibakteriyel bonding sistemlerde yararlı etkilerinin etkinliği olduğu bildirilmiştir (29).

Fissür örtücünün altına bonding ajanın uygulanması özellikle nem kontrolünün tam olarak sağlanamadığı durumlarda da bağlanma dayanımını arttırmak ve mikrosızıntısını azaltmak amacıyla tavsiye edilmektedir (30). Buna gerekçe olarak da bonding ajanın içerisindeki hidrofilik yapının nem kontaminasyonunu kompanse edebileceği bildirilmiştir (31).

Sonuç olarak, fissür örtücünün altına antibakteriyel etkiye sahip bonding uygulanmasının mikrosızıntı ve makaslama bağlanma değerleri üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür ancak bu uygulamanın antibakteriyel etkinlik bakımından yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Waggoner WF, Siegal M. Pit and fissure sealant application: updating the technique. *J Am Dent Assoc* 1996; 127: 351-61, quiz 91-2.
2. Vehkalahti M, Helminen S, Rytomaa I. Caries decline from 1976 to 1986 among 15-year-olds in Helsinki. *Caries Res* 1990; 24: 279-85.
3. Manton DJ, Messer LB. Pit and fissure sealants: another major cornerstone in preventive dentistry. *Aust Dent J* 1995; 40: 22-9.
4. Cueto EI, Buonocore MG. Sealing of pits and fissures with an adhesive resin: its use in caries prevention. *J Am Dent Assoc* 1967; 75: 121-8.
5. Sheen DH, Wang WN, Tarng TH. Bond strength of younger and older permanent teeth with various etching times. *Angle Orthod* 1993; 63: 225-30.
6. Simonsen RJ. Pit and fissure sealant: review of the literature. *Pediatr Dent* 2002; 24: 393-414.
7. Feigal RJ, Hitt J, Splieth C. Retaining sealant on salivary contaminated enamel. *J Am Dent Assoc* 1993; 124: 88-97.
8. Gungor HC, Turgut MD, Altay N. Microleakage evaluation of a flowable polyacid-modified resin composite used as fissure sealant on air-abraded permanent teeth. *Oper Dent* 2003; 28: 267-73.

9. Tulunoglu O, Bodur H, Uctasli M, Alacam A. The effect of bonding agents on the microleakage and bond strength of sealant in primary teeth. *J Oral Rehabil* 1999; 26: 436-41.
10. Frankenberger R, Tay FR. Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dent Mater* 2005; 21: 397-412.
11. Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y, McCabe JF, Russell RR. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J Dent Res* 1994; 73: 1437-43.
12. Imazato S, McCabe JF. Influence of incorporation of antibacterial monomer on curing behavior of a dental composite. *J Dent Res* 1994; 73: 1641-5.
13. Grande RH, Ballester R, Singer Jda M, Santos JF. Microleakage of a universal adhesive used as a fissure sealant. *Am J Dent* 1998; 11: 109-13.
14. Celik EU, Yazkan B, Katirci G. Başlangıç çürük lezyonların tedavisi. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2011; 21: 48-56.
15. Newbrun E. Preventing dental caries: breaking the chain of transmission. *J Am Dent Assoc* 1992; 123: 55-9.
16. Pardi V, Sinhoreti MA, Pereira AC, Ambrosano GM, Meneghim Mde C. In vitro evaluation of microleakage of different materials used as pit-and-fissure sealants. *Braz Dent J* 2006; 17: 49-52.
17. Locker D, Jokovic A, Kay EJ. Prevention. Part 8: The use of pit and fissure sealants in preventing caries in the permanent dentition of children. *Br Dent J* 2003; 195: 375-8.
18. Papacchini F *et al*. Microtensile bond strength to ground enamel by glass-ionomers, resin-modified glass-ionomers, and resin composites used as pit and fissure sealants. *J Dent* 2005; 33: 459-67.
19. Jacobs MS, Windeler AS. An investigation of dental luting cement solubility as a function of the marginal gap. *J Prosthet Dent* 1991; 65: 436-42.
20. Wahab FK, Shaini FJ, Morgano SM. The effect of thermocycling on microleakage of several commercially available composite Class V restorations in vitro. *J Prosthet Dent* 2003; 90: 168-74.
21. Ulker M, Uysal T, Ramoglu SI, Ucar FI. Bond strengths of an antibacterial monomer-containing adhesive system applied with and without acid etching for lingual retainer bonding. *Eur J Orthod* 2009; 31: 658-63.
22. Koyuturk AE, Akca T, Yucel AC, Yesilyurt C. Effect of thermal cycling on microleakage of a fissure sealant polymerized with different light sources. *Dent Mater J* 2006; 25: 713-8.
23. Feigal RJ *et al*. Improved sealant retention with bonding agents: a clinical study of two-bottle and single-bottle systems. *J Dent Res* 2000; 79: 1850-6.
24. Dhillon JK, Pathak A. Comparative evaluation of shear bond strength of three pit and fissure sealants using conventional etch or self-etching primer. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2012; 30: 288-92.
25. Boksman L, Mcconnell RJ, Carson B, Mccutcheon-Jones EF. A 2-year clinical evaluation of two pit and fissure sealants placed with and without the use of a bonding agent. *Quintessence Int* 1993; 24: 131-3.
26. Pinar A *et al*. Clinical performance of sealants with and without a bonding agent. *Quintessence Int* 2005; 36: 355-60.
27. Eminkahyagil N, Gokalp S, Korkmaz Y, Baseren M, Karabulut E. Sealant and composite bond strength to enamel with antibacterial/self-etching adhesives. *Int J Paediatr Dent* 2005; 15: 274-81.
28. Imazato S. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dent Mater* 2003; 19: 449-57.
29. Imazato S, Kaneko T, Takahashi Y, Noiri Y, Ebisu S. In vivo antibacterial effects of dentin primer incorporating MDPB. *Oper Dent* 2004; 29: 369-75.
30. Youssef MN, Youssef FA, Souza-Zaroni WC, Turbino ML, Vieira MM. Effect of enamel preparation method on in vitro marginal microleakage of a flowable composite used as pit and fissure sealant. *Int J Paediatr Dent* 2006; 16: 342-7.
31. Symons AL, Chu CY, Meyers IA. The effect of fissure morphology and pretreatment of the enamel surface on penetration and adhesion of fissure sealants. *J Oral Rehabil* 1996; 23: 791-8.