

Efeito da remoção do colágeno na resistência ao cisalhamento de sistemas adesivos de frasco único à base de água e etanol

Effect of collagen removal on shear bond strength of water/ethanol-based adhesive systems

Geórgia Valente de Macedo*
Denise Rocha Goes*
Vicente de Paulo Aragão Saboia**

* Acadêmicas de graduação em Odontologia (UFC) e bolsistas de iniciação científica.

** Doutor em Clínica Odontológica. Especialista em Dentística. Professor Adjunto de Dentística da F.F.OE. – Universidade Federal do Ceará (UFC).

e-mail: <vpsaboia@yahoo.com>

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da remoção do colágeno na resistência ao cisalhamento de dois sistemas adesivos de frasco único à base de água e etanol. Foram utilizados 60 incisivos bovinos incluídos em resina de poliestireno que tiveram suas superfícies dentinárias expostas com a utilização de discos de lixa. Estes foram aleatoriamente divididos em quatro grupos e receberam os seguintes tratamentos: G1: Single Bond aplicado de acordo com as instruções do fabricante; G2: NaOCl (hipoclorito de sódio) a 10% + Single Bond; G3: Optibond Solo aplicado de acordo com as instruções do fabricante; G4: NaOCl a 10% + Optibond Solo. Em todos os grupos, a dentina foi previamente condicionada com H₃PO₄ (ácido fosfórico) a 37% por 15 s sendo, em seguida, lavada e removido o excesso de umidade. Nos grupos 2 e 4 foi aplicada, após condicionamento ácido, uma gota de NaOCl a 10% por 60 s, lavando-se subseqüentemente por 30 s. Os sistemas adesivos foram aplicados e, após sua polimerização, um cilindro de resina composta Z-250 (3M) foi confeccionado sobre a superfície dentinária com a utilização de uma matriz bipartida. Em seguida, a resina foi fotopolimerizada por 20 segundos. Os espécimes foram armazenados em água por 7 dias. O ensaio mecânico de cisalhamento foi realizado com velocidade de 0,5 mm/min. Os valores em MPa foram: G1=4,81; G2=4,62; G3=6,80 e G4=7,33. ANOVA não identificou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Foi concluído que a resistência adesiva à dentina não foi influenciada pela remoção do colágeno para os adesivos estudados.

Palavras-chave: colágeno, hipoclorito de sódio, adesivos dentinários.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effect of collagen removal on the shear bond strength for two single-bottle water/ethanol-based adhesive systems. Sixty bovine incisors grounded in polyethylene resin that had their buccal surface exposed to dentin were used. The teeth were randomly assigned to four groups that received the following treatments: group 1 (G1): samples were conditioned with 37% phosphoric acid, rinsed and left moist, Single Bond (3M/ESPE) adhesive system was employed according to manufacturer's directions, and restorative Z-250(3M/ESPE) composite resin was bonded to the dentin surface; group 2 (G2), the same procedures were followed as for G1, except the surfaces were treated with 10% NaOCl (sodium hypochlorite) for 60 seconds, after acid conditioning; group 3 (G3): the same technique was followed as for G1, using OptiBond Solo (Kerr) according to manufacturer's directions; group 4 (G4): the same procedures were followed as for G2, using OptiBond Solo. After stored in water for 7 days the samples were tested in a shear mode at crosshead speed of 0,5 mm/minute. The mean values were (MPa): G1=4,81; G2=4,62; G3=6,80; G4=7,33. ANOVA test was used for statistical analysis of the data. A sixty-second exposure of 10% NaOCl following acid conditioning resulted in non-significant statistical difference among the groups. Collagen removal had no influence on shear bond strength of the adhesive systems tested.

Key words: collagen, sodium hypochlorite, dentin adhesives.

1 Introdução

Pesquisas atuais na área da odontologia restauradora têm buscado um aperfeiçoamento dos materiais para a obtenção de uma efetiva adesão na interface dente-material restaurador face à importância dessa união no controle de cáries secundárias (BARKMEIER; COOLEY, 1992; CHAPPEL; EICK, 1994; GWINNET, 1994; NAKABAYASHI; SAIMI, 1996; CHERSONI et al., 1998).

Um grande avanço na era da odontologia adesiva foi obtido quando Buonocore, em 1955, através da técnica de condicionamento ácido, conseguiu, com a aplicação de uma solução ácida sobre o esmalte dentário, um aumento na retenção de resinas e a superfície dentária.

O sucesso dessa técnica motivou pesquisas em busca de uma adesão forte e estável à dentina (VAN DJIKEN; HORSTEDT, 1987; TAO; PASHLEY, 1988; VAN MEERBECK et al., 1992; NAKABAYASHI; ASHIZAWA; NAKAMURA, 1992; CHAPPEL; EICK, 1994; CIUCHI; SANO; PASHLEY, 1994; WAKABAYASHI et al., 1994; GWINNET, 1994; RETIEF et al., 1994; BURKE; McCAUGHEY, 1995; SANO et al., 1995; UNO; FINGER, 1995; FUJITA et al., 1996; VARGAS; COBB; ARMSTRONG, 1997; CHERSONI et al., 1998; SABOIA; RODRIGUES; PIMENTA, 2000), visto que, logo após a confecção do preparo cavitário, a dentina coberta por *smear layer* não oferece praticamente nenhuma porosidade superficial, dificultando assim a penetração dos agentes adesivos na intimidade deste tecido (CARVALHO et al., 1999).

A aplicação da solução ácida na dentina não somente remove a *smear layer*, mas também desmineraliza a porção mais superficial da dentina subjacente, expondo uma trama de fibras colágenas que podem ser envolvidas por monômeros resinosos, criando uma zona de colágeno infiltrada por resina conhecida como camada híbrida (NAKABAYASHI; KOJIMA; MASUHARA, 1982). Essa camada é composta basicamente por duas fases. Sua porção externa constitui-se de uma densa rede de colágeno impregnada por resina e desprovida de conteúdo mineral. Abaixo desta, apresenta-se uma camada mais estreita de dentina parcialmente desmineralizada e composta de cristais de hidroxiapatita encapsulados pelo monômero resinoso (NAKABAYASHI; ASHIZAWA; NAKAMURA, 1992). Trabalhos demonstram que a formação da camada híbrida resulta em valores de resistência adesiva acima de 18 MPa em testes de cisalhamento e que quando não há formação da mesma (com remoção de colágeno), esses valores podem aumentar ou diminuir de acordo com a composição dos adesivos utilizados (VARGAS; COBB; ARMSTRONG, 1997; INAI et al., 1998; SABOIA; RODRIGUES; PIMENTA, 2000).

De acordo com Nakabayashi, Ashizawa e Nakamura (1992), a falha no processo de adesão pode iniciar-se pela hidrólise das fibras colágenas não encobertas pelo adesivo, devido à pouca permeabilidade da dentina ou por deficiência de difusibilidade do monômero resinoso, ou seja, quando este não penetra totalmente na zona desmineralizada. Essas falhas tendem a aumentar após longos períodos de imersão em água (NAKABAYASHI; ASHIZAWA; NAKAMURA, 1992).

Entretanto, Gwinnett (1994) comparou a resistência adesiva de resinas unidas à dentina com e sem colágeno e obteve em seus resultados uma semelhança estatística entre os grupos. Foi concluído então que a camada rica em colágeno (camada híbrida) parece não influenciar diretamente a resistência adesiva, que provavelmente é derivada da completa difusão da resina para os poros da dentina parcialmente desmineralizada.

A importância da camada de colágeno foi mostrada por Uno e Finger (1995), que concluíram que a remoção do colágeno resulta em um aumento na formação de "gaps", em virtude da contração de polimerização da resina ao redor de restaurações que apresentam margens em dentina. Isso, segundo esses autores, se deve à ausência da camada híbrida. Esta funcionaria como uma camada elástica, a qual relaxaria frente às tensões de deslocamento geradas pela contração de polimerização das resinas, preservando a integridade da interface adesiva.

Trabalhos têm demonstrado um aumento significativo na resistência adesiva à dentina desprovida de colágeno para adesivos à base de acetona; entretanto, para os adesivos à base de água, tem sido observada uma queda nos valores de adesão (VARGAS; COBB; ARMSTRONG, 1997; INAI et al., 1998; SABOIA; RODRIGUES; PIMENTA, 2000).

Essa diminuição da resistência da união de um adesivo à base de água e etanol à dentina sem colágeno, demonstrada por Vargas; Cobb; Armstrong (1997); Inai et al. (1998) e Saboia, Rodrigues e Pimenta (2000), mostrou a necessidade de realização de mais pesquisas no intuito de verificar o verdadeiro fator responsável por essa redução nos valores de adesão.

2 Materiais e métodos

Para a execução deste trabalho, foram utilizados 60 dentes incisivos bovinos, recém-extraídos e armazenados em soro fisiológico, em temperatura ambiente por no máximo 30 dias.

As porções coronária e radicular dos elementos dentários foram seccionadas com ponta diamantada nº. 4138 (KG Sorensen Ind. e Com. Ltda.), em alta rotação, sob abundante refrigeração ar/água.

As 60 porções coronárias foram depositadas individualmente em cilindros de PVC e incluídas em resina de poliestireno (Itap Cromex S/A). Cada uma dessas coroas teve a face vestibular fixada em uma lamínula, com o auxílio de um adesivo (SuperBonder - Loctite). Para a inclusão dos espécimes em resina de poliéstereno, 60 cilindros de tubo de PVC, medindo 2,7 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura, foram fixados em uma placa de vidro, com a utilização de cera número 7 (Polidental Ind. e Com. Ltda.).

As coroas dos elementos dentários foram depositadas no centro dos cilindros de PVC, e a resina de poliestireno foi vertida no interior destes. Posteriormente, os cilindros de PVC foram removidos, e foi obtido um total de 60 coroas incluídas em cilindros de resina de poliestireno. Para a obtenção de superfícies de dentina planas e padronizadas, as superfícies vestibulares foram desgastadas, em uma politriz elétrica giratória (Solotest-

Maxigrind) refrigerada à água, com a utilização de lixas de óxido de alumínio (Norton Abrasivos S/A) de granulações 320, 400 e 600, até a exposição da dentina. Dessa forma, foram obtidas, em cada cilindro, superfícies dentinárias planas de 4mm de diâmetro, através de observação visual.

As superfícies dentinárias expostas foram isoladas com plástico adesivo (Con Tact – Vulcan), medindo 5mm por 5mm, tendo seu centro perfurado, formando uma área circular de 3mm de diâmetro. Uma matriz de teflon bipartida com 5 mm de altura e perfuração central de 3 mm de diâmetro, fixada em um suporte metálico, foi utilizada para a confecção de cilindros de resina composta na superfície dentinária.

Foram utilizados dois sistemas adesivos de frasco único à base de água e etanol (Single Bond – 3M/ESPE e OptiBond Solo – KERR). Posteriormente à aplicação do sistema adesivo, cada espécime foi acoplado ao suporte metálico para que a resina composta fosse inserida sobre a superfície da dentina e contra as paredes laterais da matriz de teflon.

As coroas dentárias foram selecionadas aleatoriamente, e os 60 espécimes foram divididos em 4 grupos de acordo com o tratamento recebido pela dentina, conforme demonstra a Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos grupos.

Grupos	Condicionamento da Dentina	Adesivo	Remoção do Colágeno	Resina
1 (SB)	H ₃ PO ₄ a 37%	Single Bond	NÃO	Z-250
2 (SBH)	H ₃ PO ₄ a 37%	Single Bond	SIM	Z-250
3 (OP)	H ₃ PO ₄ a 37%	OptiBond Solo	NÃO	Z-250
4 (OPH)	H ₃ PO ₄ a 37%	OptiBond Solo	SIM	Z-250

GRUPO 1 (SB): Foi utilizado o sistema adesivo SINGLE BOND (3M/ESPE). A dentina foi condicionada com ácido fosfórico a 35% (3M/ESPE) por 15 segundos e lavada por 15 segundos. A remoção do excesso de umidade da dentina foi realizada com papel absorvente sem esfregar ou comprimir a dentina, com o intuito de evitar o colapso da malha de colágeno. A aplicação do adesivo foi feita de acordo com as recomendações do fabricante a fim de que houvesse a formação da camada híbrida. Para a confecção do cilindro, utilizou-se a resina Z-250 (3M/ESPE), cor C2, em dois incrementos que foram aplicados com espátula número 1 (Golgran Ind. e Com. de Instrumental Odontológico Ltda.). Cada um dos incrementos foi fotopolimerizado por 20 segundos, por fotopolimerizador dotado de radiômetro (Optilux 500 – Demetron), no qual foi observada a intensidade de luz de 500 mW/cm². Posteriormente, a matriz foi cuidadosamente aberta com o auxílio de uma lâmina de bisturi, objetivando não induzir tensões na área de união, e o plástico adesivo foi retirado utilizando-se uma sonda exploradora número 5 (Golgran Ind. e Com. de Instrumental Odontológico Ltda.).

Uma fotopolimerização final foi realizada com 20 segundos de exposição para cada uma das três porções laterais da restauração, totalizando 60 segundos.

Foram obtidos cilindros de resina composta de 5mm de altura e 3mm de diâmetro sobre a dentina planificada.

GRUPO 2 (SBH): Foram realizados os mesmo procedimentos do grupo 1, acrescentado-se, após o condicionamento ácido, a aplicação de solução de hipoclorito de sódio a 10% por 60 segundos e posterior lavagem por 30 segundos.

GRUPO 3 (OP): Foi utilizado o sistema adesivo OptiBond Solo (Kerr) de acordo com as instruções do fabricante, sendo o restante dos procedimentos iguais aos do grupo 1.

GRUPO 4 (OPH): Foram feitos os procedimentos semelhantes ao do grupo 3, sendo feita a aplicação de hipoclorito de sódio como no grupo 2.

Os espécimes foram estocados por um período de 7 dias em água destilada em temperatura ambiente, quando foi então executado o ensaio mecânico.

O ensaio mecânico de cisalhamento foi realizado com o auxílio de uma máquina de ensaio universal EMIC-DL500, com célula de carga de 100 kg e a uma velocidade de 0,5 mm/min. A aplicação da carga foi feita por meio da utilização de um cinzel com ponta de 0,5 mm de largura, posicionado na base do cilindro de compósito e o mais próximo possível da interface adesiva.

A resistência da união ao cisalhamento foi obtida pela seguinte fórmula:

$$\tau = F/A$$

onde: τ é a resistência ao cisalhamento; F, a força aplicada; e A, área de união ($A = \pi r^2$).

Os valores obtidos foram tabulados e submetidos à análise estatística.

3 Resultados e discussão

Os valores (em MPa) obtidos através do ensaio mecânico de cisalhamento foram: G1= 4,81; G2= 4,62; G3= 6,80; G4= 7,33 (Tabela 2). ANOVA (Análise de variância) não identificou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos no que se referem ao tratamento da dentina com NaOCl dos espécimes nem ao tipo de adesivo utilizado.

Após o advento da técnica de condicionamento ácido proposta por Buonocore, em 1955, tornou-se possível a adesão ao esmalte dentário. Por outro lado, a adesão à dentina não atingiu resultados tão satisfatórios e, dessa forma, tem sido alvo de muitos estudos até os dias atuais, devido a sua complexidade morfo-funcional, quando comparada ao esmalte dentário (SAKAE; MISHIMA; KOZAWA, 1988; PERDIGÃO et al., 2000; REIS et al., 2000).

Tabela 2 – Valores de resistência ao cisalhamento.

	n	Valores (MPa)
Grupo 1 (SB)	13	4,8 ^a +/- 2,4
Grupo 2 (SBH)	12	4,6 ^a +/- 2,2
Grupo 3 (OP)	14	6,8 ^a +/- 4,2
Grupo 4 (OPH)	14	7,3 ^a +/- 4,8

Wakabayashi et al.(1994) sugeriu que a resistência adesiva poderia estar relacionada com a quantidade de colágeno presente na dentina. Em seus estudos, após o condicionamento da dentina, aplicou NaOCl para a remoção do colágeno, em seguida, aplicou os adesivos Clearfill New Bond (Kuraray) ou Panavia Ex (J.Morita) e, posteriormente, cimentou um cilindro de metal de 4mm à dentina. Após o ensaio mecânico de cisalhamento, foi observado um aumento na resistência adesiva para os espécimes em que foi utilizado o NaOCl e uma constante de diferença de valores de adesão mesmo após 10.000 ciclos térmicos, em relação aos grupos nos quais foi utilizado somente o ácido fosfórico.

Gwinnet (1994) verificou que a remoção da camada de colágeno não alterou estatisticamente os resultados de resistência adesiva e, assim, sugeriu que a camada híbrida não influiria na adesão, pois esta se deve provavelmente à completa difusão da resina para os poros de dentina parcialmente desmineralizada.

Vargas, Cobb e Armstrong (1997) compararam a eficiência de dois sistemas adesivos na dentina com e sem colágeno. Foi observado que o uso do NaOCl resultou no aumento da resistência adesiva para o All Bond 2 (Bisco), enquanto que para o Scotch Bond Multipurpose (3M/ESPE) não houve diferenças significativas entre os grupos, o que indicaria uma penetração mais eficiente do SBMP, em comparação ao All Bond 2 quando aplicado à dentina na qual a camada de colágeno foi mantida intacta. Os resultados desse estudo sugeriram então que o uso do NaOCl poderia aumentar a resistência adesiva para alguns tipos de sistemas adesivos.

Estudos encontraram valores de resistência adesiva maiores ou semelhantes, quando se removia a camada de colágeno, concluindo que a camada híbrida não exerce um papel de suma importância na adesão entre dentina e resina (GWINNET, 1994; Vargas Cobb, Armstrong, 1997). Porém, Inai et al. (1998) e Saboia, Rodrigues e Pimenta (2000) observaram maiores valores de adesão após a remoção do colágeno somente nos adesivos à base de acetona, sendo esse tratamento ineficiente para adesivos à base de água e etanol.

Reis et al. (2000) demonstraram que o uso do NaOCl possibilita uma maior padronização no processo adesivo, pois, quando há remoção do colágeno, ocorre a adesão tanto em dentina úmida como seca. Assim, a obtenção de uma superfície dentinária completamente seca é mais fácil e viável, ao contrário da obtenção de uma superfície adequadamente úmida, em todo o preparo cavitário, principalmente em regiões de difícil acesso.

Outros estudos enfatizam que, apesar dos maiores valores de adesão obtidos quando é realizada a desproteinização (remoção do colágeno) posteriormente ao condicionamento ácido, esses resultados não devem ser considerados conclusivos para a aplicação clínica do NaOCl, pois o módulo de elasticidade da camada híbrida, menor que o da resina composta, poderia funcionar como uma camada elástica capaz de absorver tensões. Na ausência desta interface, haveria a formação de "gaps" decorrentes da contração de polimerização da resina composta e das alterações volumétricas

ocasionadas pelas mudanças de temperatura. (UNO; FINGER, 1995). No entanto, esse efeito não foi verificado por Saboia, Pimenta, Ambrosano (2002) que demonstraram a redução da microinfiltração em espécimes tratados com hipoclorito de sódio e restaurados com adesivos Prime&Bond 2.1 (Dentsply) e resina composta Z-100 (3M/ESPE). Os espécimes foram submetidos a 5000 ciclos térmicos e esticados em água por um ano. Já para o adesivo Single Bond (3M/ESPE), não houve diferenças estatisticamente significativas para microinfiltração entre os espécimes tratados ou não com hipoclorito de sódio. Esses resultados demonstraram que a técnica da remoção de colágeno parece ser independente do tipo de adesão ou de seu solvente.

Em nossos resultados não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos 1 (SB) e 2 (SBH) e entre os grupos 3 (OP) e 4 (OPH). Esse comportamento, provavelmente, deve-se ao fato de os dois sistemas adesivos serem à base de etanol/água, que, por sua baixa capacidade de deslocar a água remanescente na superfície da dentina, dificulta a penetração do monômero resinoso nas irregularidades superficiais microscópicas da dentina intertubular, expostas pela ação do hipoclorito de sódio. Na presença de fibras colágenas, independente do sistema adesivo, ocorre a formação da camada híbrida, decorrente da difusão do monômero resinoso pela malha de colágeno. Este fato foi comprovado nos grupos controle 1 (SB) e 3 (OP), onde não se observaram diferenças estatisticamente significativas.

Os resultados obtidos neste experimento foram, em parte, concordantes com os de Castro, Hara e Pimenta (2000), os quais demonstraram que, após a aplicação de NaOCl 10%, previamente ao sistema adesivo OptiBond Solo, não houve diferenças na resistência ao cisalhamento quando comparada à aplicação do adesivo sem a remoção do colágeno. Entretanto, este mesmo trabalho observou que para o sistema adesivo Single Bond houve uma melhora nos valores de adesão, conflitando assim com os valores obtidos em nosso experimento, e também nos trabalhos de Inai et al. (1998) e de Saboia, Rodrigues e Pimenta (2000).

Diante das divergências de resultados entre autores, o comportamento dos diversos sistemas adesivos sobre a dentina desproteinizada ainda não está totalmente compreendido. Além de um provável aumento da resistência adesiva, a possibilidade de aplicação do adesivo no substrato dentinário seco facilitaria a padronização da adesão. Isso sugere a realização de mais estudos comparativos, no intuito de identificar o verdadeiro fator responsável (solvente ou outro componente) pelo aumento ou diminuição da resistência adesiva quando o hipoclorito de sódio é aplicado à dentina após o condicionamento ácido.

A partir dos dados obtidos sob as condições deste experimento, pode-se concluir que:

- a remoção do colágeno não influenciou os valores de resistência adesiva para os materiais Single Bond e Opti Bond Solo;

- quando a camada de colágeno foi mantida intacta, os sistemas adesivos não apresentaram diferenças estatisticamente significativas nos valores de resistência adesiva.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – Brasil).

Referências

BARKMEIR, W. W.; COOLEY, R. L. Laboratory evaluation of adhesive systems. *Operative Dent.*, Seattle, v. 5, suppl. 5, p. 50-61, 1992.

BUONOCORE, M. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surface. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v. 34, n. 6, p. 849-53, Dec. 1955.

BURKE, F. J. T.; McCAUGHEY, A. D. The four generations of dentin bonding. *Am. J. Dent.*, San Antonio, v. 8, n. 2, p. 88-92, Apr. 1995.

CARVALHO, R.M et al. Resin diffusion through demineralized dentin matrix. *Rev. Odontol. Univ São Paulo*, São Paulo, v. 13, n. 4, p. 417-24, jul./ago. 1999.

CASTRO, A. K. B.; HARA, A. T.; PIMENTA, L. A. Influence of collagen removal on shear bond strength of one-bottle adhesive systems in dentin. *J. Adhes. Dent.*, New Malden, Surrey, v. 2, n. 4, p. 271-7, 2000.

CHAPPEL, R. P.; EICK, J. D. Shear bond strength and scanning electron microscopic observation of six current microscopic adhesives. *Quintessence Int.*, Berlin, v. 25, n. 5, p. 359-68, May 1994.

CHERSONI, S. et al. Effect of collagen layer on self etching bonding systems adhesives. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v. 77, p. 238, Mar. 1998. [Abstract 1062]

CIUCHI, B.; SANO, H.; PASHLEY, D. H. Bonding to sodium hypochlorite treated dentin. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v. 73, p. 296, Mar. 1994. [Abstract 1556]

FUJITA, E. et al. Effect of NaOCl pre-conditioning to bovine root canal dentin. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v. 75, p. 391, Mar. 1996. [Abstract 2990].

GWINNETT, A.J. Altered tissue contribution to interface bond strength with acid conditioned dentin. *Am. J. Dent.*, San Antonio, v. 9, n. 4, p. 140-144, Aug. 1994.

INAI, N. et al. Adhesion between collagen depleted dentin and dentin adhesives. *Am. J. Dent.*, San Antonio, v. 11, n. 4, p. 154-59, Aug. 1998.

NAKABAYASHI, N.; SAIMI, Y. Bonding to intact dentin. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 5, suppl. 5, p. 125-30, 1996.

NAKABAYASHI, N.; ASHIZAWA, M.; NAKAMURA, M. Identification of resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin.

Quintessence Int., Berlin, v. 23, n. 2, p. 135-41, Feb. 1992.

NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J. Biomed. Mater. Res.*, New York, v. 16, n. 3, p. 256-73, May 1982.

PERDIGÃO, J. et al. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dent. Mater.*, Washington, v. 16, p. 311-323, 2000.

REIS, A. et al. Influência do colágeno na resistência de união à dentina úmida e seca. *RPG Rev. Pós Grad.*, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 133-139, abr./jun. 2000.

RETIEF D. H. et al. Shear bond strength required to prevent microleakage at the dentin/restoration interface. *Am. J. Dent.*, San Antonio, v. 7, n. 1, p. 43-6, Feb. 1994.

SABOIA, V. P. A.; PIMENTA, L. A. F. Effect of collagen removal on shear bond strength of two single bottle adhesive systems. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 25, n. 5, p.395-400, 2000.

SABOIA, V. P. A.; PIMENTA, L. A. F. AMBROSANO, G. M. B. Effect of collagen removal on microleakage of resin composite restorations. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 27, n. 1, p. 38-43, Jan./Feb. 2002.

SAKAE, T.; MISHIMA, H.; KOZAWA Y. Changes in bovine mineral with sodium hypochloride treatment. *J. Dent. Res.*, Alexandria, v. 67, n. 9, p. 1229-1234, Sep. 1988.

SANO, H. et al. Nanoleakage: Leakage within the hybrid layer. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 20, n. 1, p. 18-25, Jan./Feb. 1995.

TAO, L.; PASHLEY, D. Shear bond strengths to dentin: effects of surface treatments, depth and position. *Dent. Mater.*, Copenhagen, v. 4, n. 6, p. 371-78, Dec. 1988.

UNO, S.; FINGER, W.J. Function of the hybrid zone as a stress-absorbing layer in resin-dentin bonding. *Quintessence Int.*, Berlin, v. 26, n. 10, p. 733-8, Oct. 1995.

VAN DJIKEN, J. W. V.; HORSTEDT. P. Effect of 5% sodium hypochlorite or tubulicid pretreatment in vivo on the marginal adaptation of dental adhesives and glass ionomer cements. *Dent. Mater.*, Washington, v. 3, n. 6, p. 303-06, Nov. 1987.

VAN MEERBECK et al. factors affecting adhesion to mineralized tissues. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 5, p. 50-61, July 1992. [Supplement 5]

VARGAS, M.A.; COBB, D.S.; ARMSTRONG, S.R. Resin-dentin shear bond strength and interfacial ultrastructure with and without hybrid layer. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 22, n. 5, p. 159-66, Sep./Oct. 1997.

WAKABAYASHI, Y. et al. Effect of dissolution of collagen adhesion to dentin. *Int. J. Prosthodont.*, Carol Stream, v. 7, n. 4, p. 302-06, July/Aug. 1994.

