

ANA PAULA MARTINS GOMES

AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DE DOIS ADESIVOS  
DENTINÁRIOS PELO ESTUDO DAS REAÇÕES TECIDUAIS EM  
CONJUNTIVO DE RATOS.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia,  
Campus de São José dos Campos, Universidade  
Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como  
parte dos requisitos para a obtenção do título de  
MESTRE; pelo Curso de Pós-Graduação em  
ODONTOLOGIA, Área de Concentração em  
Odontologia Restauradora.

Orientador: Professor Doutor Jaime Freitas Ribeiro  
Co-Orientadora: Professora Adjunta Terezinha de  
Oliveira Nogueira



São José dos Campos  
1994

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:

RIBEIRO, J.F. et al. *Roteiro para redação de monografias, trabalhos de cursos, dissertações e teses*. São José dos Campos, 1993. 66p.

GOMES, A.P.M. *Avaliação da biocompatibilidade de dois adesivos dentinários pelo estudo das reações teciduais em conjuntivo de ratos*. São José dos Campos, 1994. 86p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Dedico este trabalho aos meus pais Antonio e Neide,  
meu irmão Ênio Luiz e meu namorado Luís Eduardo,  
por tudo que eles representam para mim.

Ao Professor Doutor Jaime Freitas Ribeiro,  
pela atenção e desprendimento em todos os momentos difíceis.

À Professora Adjunta Terezinha de Oliveira Nogueira,  
pelo carinho e incentivo.

À Professora Titular Maria Amélia Máximo de Araújo,  
pelo exemplo de vida e trabalho que procuro seguir.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Titular José Benedicto de Mello, Coordenador do Curso de Pós-Graduação na área de Odontologia Restauradora, pelo empenho e dedicação na realização deste curso.

À Professora Leila Novaes, pela orientação e revisão da apresentação gráfica, normalização da redação e referências bibliográficas deste trabalho.

Ao Professor Assistente Maximiliano Piero Neisser, pela colaboração na revisão da literatura.

Aos técnicos Guilherme Ortiz de Mello e Domingos Gonçalves Pontes, pelo auxílio na execução da parte cirúrgica deste trabalho.

Aos funcionários Lourival Jacobs e Antônio Domingos Sávio Barbosa Maia, pelo zelo com que cuidaram dos animais no biotério da Faculdade.

Às técnicas Ayde Gonçalves Alves e Ana Lourdes da Silva Machado, pelo valioso trabalho executado no processamento histológico.

Às secretárias Goretti Fátima dos Santos Oliveira, Erena Michie Hasegawa e Rosemary de Fátima Salgado Pereira, pelo auxílio durante o curso de Mestrado.

À técnica Lizetti Roselli Oliveira e Souza, pelo interesse e carinho com que me auxiliou desde o início do trabalho.

À técnica Mônica Guimarães Figueiredo, pelo auxílio na execução das fotografias.

Ao Professor Manoel Cosmo da Silva, pela revisão léxica e lingüística.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
3 PROPOSIÇÃO.....	49
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
5 RESULTADOS.....	54
6 DISCUSSÃO.....	65
7 CONCLUSÕES.....	74
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
...RESUMO.....	83
...ABSTRACT.....	85



## 1 INTRODUÇÃO

A Odontologia evoluiu muito nos últimos anos, fato igualmente verificado nas áreas da Prevenção, Implantologia e Dentística. Sem dúvida, essa evolução na área da Dentística ocorreu principalmente devido às pesquisas com novos materiais, visando principalmente à busca de materiais adesivos que pudessem minimizar os problemas decorrentes da infiltração marginal.

A técnica do condicionamento ácido do esmalte, proposta por Buonocore<sup>9</sup> (1955), deu início a grandes expectativas dentro da Odontologia. Com essa técnica, estaria solucionado o problema de retenção e infiltração através do esmalte, mas em margens de dentina isso não acontecia, segundo Burger & Garone Netto<sup>10</sup> (1992). A dentina possui estrutura e composição química diferentes do esmalte, tornando o processo de adesão mais complexo. Além dessas diferenças, existem variações na própria dentina que podem interferir e dificultar o processo de adesão, tais como: tipo de dentina, região do dente, profundidade do preparo cavitário, presença de *smear layer*, água e oxigênio nos túbulos dentinários, tratamento da dentina.

Muitas pesquisas foram realizadas em busca de materiais que pudessem conferir adesividade também à dentina, contribuindo para o sucesso das restaurações. Assim, por volta de 1970, surgiram os primeiros adesivos dentinários, apresentando resultados promissores nesse campo. As pesquisas foram evoluindo rapidamente e os adesivos dentinários sofreram várias alterações na tentativa de aumentar a força de adesão à dentina e melhorar seu desempenho clínico.

Os sistemas adesivos dentinários são constituídos por três componentes aplicados separadamente, ou, em alguns casos, por dois componentes combinados. Os componentes são: a) condicionador, b) *primer* e c) adesivo. O processo de adesão entre os sistemas adesivos e a dentina ocorre através de um mecanismo de união micromecânica e química, segundo Erickson<sup>15</sup> (1992). Muitos sistemas adesivos disponíveis atualmente no mercado utilizam uma concentração não muito alta de ácido para tratar a dentina, sendo que todos eles propiciam a formação da chamada camada híbrida, resultado de uma combinação entre o colágeno e o sistema adesivo, conforme Leinfelder<sup>29</sup> (1993) e Pashley et al.<sup>37</sup> (1993). Essa camada seria capaz de promover o isolamento dos processos odontoblásticos e seus fluidos da superfície externa da dentina recém-cortada, reduzir ou mesmo eliminar a sensibilidade pós-operatória, promover a adesão entre a resina composta e a superfície dentinária e impedir a invasão de microorganismos até a polpa, de acordo com Chain & Leinfelder<sup>11</sup> (1993).

Os adesivos dentinários foram indicados inicialmente para restaurações com resina composta. Os sistemas adesivos atuais apresentam-se para múltiplos usos: união de facetas de porcelana, reparos em compósitos, reparos em porcelana, colagem de próteses adesivas e união de compósitos a restaurações antigas de amálgama, conforme Kerr Dental Materials Center<sup>27</sup> (1992) e 3M Produtos Dentários<sup>43</sup> (1992). Cada vez mais, esses materiais estão participando da atividade clínica diária e facilitando-a.

Contudo, além das indicações citadas, Bruce et al.<sup>8</sup> (1993) sugeriram a utilização de adesivos dentinários em cirurgias periapicais. Os autores acreditavam que os adesivos dentinários poderiam promover um selamento apical e tornar desnecessário o preparo cavitário convencional para a obturação retrógrada de canais radiculares. Isso seria extremamente vantajoso nos casos de acesso cirúrgico difícil. Entretanto, considerando o fato de que esses materiais entrariam em contato direto com tecidos vitais, recomendaram que fosse avaliado o potencial citotóxico desses adesivos antes de utilizá-los clinicamente. Essa recomendação tem muito fundamento porque, apesar do grande número de pesquisas publicadas sobre adesivos dentinários, a maioria delas destaca aspectos como composição, microinfiltração, adaptação marginal, resistência adesiva e desempenho clínico; sendo restrito o número de pesquisas avaliando as propriedades biológicas desses materiais, segundo publicação da American Dental Association (ADA), Council on Dental Materials, Instruments and Equipment<sup>3</sup> (1987) e Al-Dawood & Wennberg<sup>1</sup> (1993).

Segundo a American Dental Association (ADA), Council on Dental Materials and Devices<sup>2</sup> (1972); Autian<sup>4</sup> (1974); Federation Dentaire Internationale (FDI), Commission on Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics<sup>17</sup> (1980); Griffiths & Langeland<sup>18</sup> (1981); International Organization for Standardization-ISO/ TR 7405<sup>21</sup> (1984); Tyas<sup>44</sup> (1991) e International Organization for Standardization- ISO/ TC 10993-1<sup>22</sup> (1992), a avaliação biológica dos materiais dentários pode ser realizada em três níveis diferentes: citotoxicidade determinada por testes de cultura de células *in vitro*,

toxicidade tecidual em animais através de implantes em tecido subcutâneo ou intramuscular, ou através dos chamados testes de uso, observando-se as reações pulpares após a inserção do material em dentes humanos ou de animais. Contudo, é responsabilidade do fabricante selecionar os testes apropriados de acordo com a utilização pretendida do material, conhecendo e definindo o perfil de toxicidade do mesmo ou de seus componentes, conforme as recomendações da FDI<sup>17</sup> (1980).

De acordo com as recomendações da ISO<sup>22</sup> (1992), os materiais devem ser reavaliados biologicamente no caso da ocorrência de alterações na formulação, processamento, condicionamento, utilização pretendida ou qualquer evidência de que o material possa causar efeitos adversos quando utilizado em humanos.

Stanley<sup>40</sup> (1992) verificou que atualmente os materiais dentários estão sendo tratados como drogas, e por isso devem satisfazer os requisitos de segurança e eficácia das drogas e dispositivos médicos. Na opinião desse autor, biocompatibilidade é a palavra chave. As avaliações biológicas dos materiais dentários fornecem dados, por meio dos quais podem ser feitas projeções razoáveis e previsões sobre as condições nas quais um produto possa ser seguramente utilizado.

A avaliação biológica dos sistemas adesivos dentinários tem sido conduzida, geralmente, por meio de testes de cultura de células *in vitro*, segundo Meryon & Brook<sup>31</sup> (1989); Hanks et al.<sup>19</sup> (1992); Bruce et al.<sup>8</sup> (1993) e Bouillaguet et al.<sup>6</sup> (1993), ou através das observações histológicas das reações pulpares em dentes de animais

ou pré-molares humanos, segundo Van Leewwen et al.<sup>46</sup> (1982); ADA<sup>3</sup> (1987); Johnson et al.<sup>23</sup> (1991); White et al.<sup>49</sup> (1992); Cox<sup>13</sup> (1992) e Elbaum et al.<sup>14</sup> (1992). Entretanto, os resultados e conclusões das avaliações biológicas são variados e não incluem todos os sistemas adesivos dentinários, de acordo com a ADA<sup>3</sup> (1987).

Al-Dawood & Wennberg<sup>1</sup> (1993) fizeram uma revisão da literatura sobre biocompatibilidade de adesivos dentinários, mas não encontraram nenhum estudo biológico sobre os adesivos de quarta geração, e procuraram incentivar trabalhos sobre os testes *in vivo* desses materiais.

Devido ao pequeno número de trabalhos relacionados a esse assunto, bem como aos diferentes resultados obtidos, consideramos importante realizar um estudo *in vivo* que possa contribuir para a avaliação da biocompatibilidade dos adesivos dentinários, verificando a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos ao implante desses materiais.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Mitchell<sup>32</sup> (1959) sugeriu o teste de implantação subcutânea em ratos, como um método simples e rápido para se determinar a capacidade irritativa dos materiais dentários.

O autor confeccionou corpos de prova com 22 materiais dentários e implantou-os no tecido conjuntivo subcutâneo de 75 ratos albinos, machos (três corpos de prova do mesmo material em cada rato). Após períodos de 2, 14 e 28 dias, os implantes foram removidos e os tecidos circunjacentes foram avaliados microscopicamente. As reações inflamatórias foram classificadas como discretas, moderadas ou graves, de acordo com o tipo e número relativo de leucócitos, vascularização da área e espessura relativa da cápsula fibrosa que envolvia os implantes.

Os materiais testados foram classificados em três grupos, de acordo com a reação apresentada:

- reação discreta: ouro em folha, incrustações áuricas, porcelana fundida, resina polimerizada, resina não polimerizada, óxido de zinco e eugenol, óxido de zinco e eugenol mais acetato de zinco, cimento de fosfato de zinco, cimento resinoso, óxido de zinco e eugenol mais verniz.
- reação moderada: amálgama de prata, resina mais fluoreto de sódio a 2%, silicato recém-manipulado, silicato após 24 horas de manipulação,

óxido de zinco e eugenol mais acetato de zinco e hidróxido de cálcio, hidróxido de cálcio, guta-percha, silicato mais verniz.

- reação grave: amálgama de cobre, cimento cúpreo, resina mais fluoreto de sódio a 5%, óxido de zinco e eugenol mais óleo de croton.

O autor considerou, como vantagens do teste de implantação subcutânea, a rapidez, a simplicidade técnica e o pequeno número de variáveis associadas a ele. Concluiu que o método poderia contribuir para o conhecimento da capacidade irritativa dos materiais dentários, sendo aplicável a muitas outras drogas ou materiais.

Torneck<sup>41</sup> (1966) implantou 24 tubos de polietileno de vários comprimentos (4, 6 e 10mm) e diâmetros (0,58 , 0,86, 1,14 e 1,40mm) no tecido subcutâneo dorsal de seis ratos. Metade dos tubos permaneceu com ambas as extremidades abertas e a outra metade teve uma de suas extremidades fechada. Após um período de 60 dias, examinou histologicamente os espécimes e observou a formação de uma ponte de tecido conjuntivo no interior de alguns tubos abertos e não em outros. Essa característica de formação de ponte de tecido conjuntivo no interior dos tubos foi mais evidente nos tubos com menor comprimento e maior diâmetro. O fechamento do tubo em uma das extremidades impediu a invaginação de tecido conjuntivo para o interior do mesmo, em qualquer uma das situações testadas. Em todos os espécimes estudados, houve a presença de uma cápsula de tecido conjuntivo, envolvendo os implantes de polietileno, que não apresentava sinais de inflamação, indicando segundo o autor, a aceitabilidade desse material para testes em tecido conjuntivo de ratos.

Torneck<sup>42</sup> (1967), na segunda parte de seu estudo sobre a reação do tecido conjuntivo de ratos aos implantes de tubos de polietileno, implantou 24 tubos, com os mesmos comprimentos e diâmetros utilizados no trabalho anterior, em outros seis ratos. Todos os tubos tiveram uma de suas extremidades fechada. Metade dos tubos foi preenchida com fragmentos de tecido muscular autoclavados, obtidos da perna de um dos ratos do estudo. A outra metade dos tubos foi preenchida com fragmentos de tecido muscular autoclavados, obtidos do mesmo animal e posteriormente contaminados com cocos gram negativos. Após 60 dias, os implantes foram removidos e o autor observou que, embora a presença de músculo estéril tivesse um efeito irritante sobre o tecido conjuntivo, na maioria dos casos, esse efeito era suave, e não impedia o processo de reparação. A combinação de músculo autoclavado e microorganismos apresentou as piores condições para reparação nesse estudo. Essa combinação produziu um efeito irritante sobre o tecido conjuntivo, havendo formação de pus em todos os espécimes e abscesso em cinco deles. O tecido conjuntivo que envolvia os tubos de polietileno (áreas laterais e extremidade fechada) apresentou-se livre de inflamação e mostrou capacidade normal para reparação.

Phillips<sup>38</sup> (1967) implantou tubos de polietileno vazios de vários diâmetros (0,59, 0,77, 1,0, 1,2, 1,4, e 1,7mm) e comprimentos (6, 10 e 15mm) no tecido subcutâneo dorsal de 12 ratos. Cada animal recebeu quatro implantes. Após 60 dias, os animais foram sacrificados, os implantes removidos e preparados para avaliação microscópica. A análise histológica revelou que todos os tubos foram encapsulados por



tecido conjuntivo fibroso; entretanto, os tubos menores com diâmetros maiores mostraram uma invaginação de tecido conjuntivo para o interior da extremidade aberta dos mesmos. A cápsula que envolvia os tubos consistia de fibroblastos, fibrócitos, fibras colágenas, poucos plasmócitos e macrófagos. Houve pouco infiltrado inflamatório nas paredes laterais dos tubos e nas extremidades abertas. O tecido conjuntivo da cápsula estava mais vascularizado e mostrava vários capilares contendo hemácias. Não foi observada concentração de leucócitos polimorfonucleares ou evidência de necrose no tecido adjacente à extremidade aberta dos tubos.

A American Dental Association (ADA), Council on Dental Materials and Devices<sup>2</sup> (1972) recomendou uma padronização de práticas para a avaliação biológica dos materiais dentários. Os materiais dentários foram divididos em cinco tipos:

- tipo I- materiais que contactam partes do corpo além da cavidade oral, através do manuseio, ingestão acidental ou inalação.
- tipo II- materiais que contactam membranas mucosas e outros tecidos moles da cavidade oral.
- tipo III- materiais que possam afetar a saúde ou vitalidade da polpa ou tecidos moles adjacentes.
- tipo IV- materiais para obturação de canais radiculares.
- tipo V- materiais que possam afetar a saúde dos tecidos duros dos dentes.

Cada tipo de material foi subdividido em classes para facilitar sua identificação. Para cada tipo de material, foram recomendados os testes biológicos, necessários à sua aceitação.

Esses testes foram classificados da seguinte maneira: testes de implantação, teste de toxicidade sistêmica aguda, teste de irritação da membrana mucosa e teste de irritação da polpa.

Os testes de implantação de curta duração foram divididos em dois tipos:

- teste A- implantação subcutânea do material em grupos de três animais (não especifica a espécie) a serem sacrificados em três períodos de tempo (7-10 dias, 21-35 dias e 60-80 dias). O tecido circunjacente aos implantes deve ser examinado por métodos histopatológicos e as reações classificadas em discretas, moderadas ou graves.
- teste B- implantação intramuscular em coelhos a serem sacrificados em uma semana. Os resultados obtidos devem ser avaliados ao exame macroscópico e classificados em 0 (não reativo) até 3+ (marcada reação). Quando necessário confirmar uma reação tóxica ou irritante, pode-se realizar uma avaliação histopatológica do tecido excisado ao redor do implante.

A toxicidade de um material foi definida como a medida das alterações estruturais ou funcionais do tecido vivo que poderão ocorrer pela exposição desse tecido a uma dada concentração do material.

Autian<sup>4</sup> (1974) estudou os tipos de testes aplicáveis em cada nível de avaliação biológica dos materiais dentários e descreveu as técnicas de execução de cada um deles. Ressaltou que, embora muitos testes mecânicos, físicos e químicos dos materiais dentários tenham sido realizados nos últimos cinquenta anos, apenas recentemente foi reconhecida a importância dos testes biológicos. Esses testes têm sido desenvolvidos para avaliar a segurança ou riscos na utilização dos materiais dentários.

O autor afirmou que a avaliação completa dos materiais dentários deveria incluir três níveis de testes. No nível 1, considerou uma série de testes pré-clínicos, estudos em animais e testes *in vitro* dos materiais e de seus componentes. No nível 2, preconizou testes em animais nos locais onde o material seria utilizado em humanos. No nível 3, enumerou os testes que deveriam ser realizados em humanos.

Natiella & Fischman<sup>35</sup> (1975) fizeram um estudo sobre os implantes de resina na área médica e odontológica e afirmaram que os fatores que podem influenciar a resposta tecidual para esses implantes são numerosos e complexos. Destacaram que a reação tecidual ao redor dos implantes tem sido ponto de constante preocupação e grande debate. A formação de tecido conjuntivo fibroso ao redor do implante é considerada como resposta desejável por alguns, e evidência de falha por outros. Salientaram que a natureza exata dessa estrutura ainda precisa ser demonstrada e sugeriram a utilização de microscopia eletrônica para determinar a resposta tecidual baseada no exame das organelas celulares.

Mjör et al.<sup>34</sup> (1977) compararam os resultados obtidos nas técnicas de cultura de células, testes de implantação e reações pulpares (testes de uso), utilizando cimento de silicato, resina composta e cimento de óxido de zinco e eugenol. Eles verificaram que as três técnicas de avaliação biológica permitiam diferenciação entre as reações produzidas pelos materiais, mas existia uma fraca correlação entre os resultados das diferentes técnicas. Por exemplo, o cimento de óxido de zinco e eugenol causou reações graves em todas as técnicas de cultura de células e, entretanto, nenhuma reação pulpar grave em valores relativos. Os autores atribuíram essa fraca correlação entre os resultados às limitações e variáveis inerentes a cada técnica, mas ressaltaram que essas dificuldades na avaliação provocam questionamentos sobre a padronização e os testes de avaliação biológica dos materiais dentários. Concluíram que as informações obtidas desse trabalho são importantes na seleção das técnicas para os testes biológicos dos materiais dentários, levando-se em consideração as vantagens e desvantagens de cada uma.

Tyas & Browne<sup>45</sup> (1977) discutiram as vantagens e desvantagens dos métodos existentes para os testes biológicos dos materiais restauradores, salientando o fato de que os procedimentos para a padronização desses testes estavam muito atrasados devido à dificuldade de se definirem e controlarem as condições dos testes para a obtenção de resultados reproduzíveis. Eles agruparam os fatores inerentes aos testes biológicos, que poderiam produzir variações nos resultados, em dois grupos: fatores gerais e fatores específicos. Quanto aos fatores gerais, que se relacionam aos animais usados, enumeraram:

variações entre espécies, variações dentro da espécie, variação individual e envelhecimento. Quanto aos fatores específicos, que se relacionam com os testes propriamente ditos, enumeraram: local do teste (subcutâneo, intramuscular ou em dentes) e os materiais utilizados (método de manipulação e estado físico durante a inserção).

Devido ao grande número de variáveis que poderiam influenciar os resultados dos testes biológicos *in vivo*, os autores defenderam a utilização do método de cultura de células *in vitro*, enumerando seis vantagens. Primeira, cada linhagem de células é precisamente identificada por nome e origem, podendo ser adquirida facilmente. Segunda, como os meios de cultura são geralmente definidos quimicamente, o ambiente celular pode ser corretamente reproduzido. Terceira, as células cultivadas não constituem parte de um sistema biológico complexo de muitos tipos de células interdependentes, e sua resposta a irritantes não é, portanto, modificada por processo inflamatório ou por controles imunológicos, nervosos ou hormonais. Quarta, células cultivadas respondem muito mais rapidamente às mudanças no ambiente, levando horas, ao invés de semanas ou meses como nos testes em animais. Quinta, muitos parâmetros da resposta celular podem ser facilmente quantificados em culturas, devido ao fato de que a população inteira de células é de um só tipo e, se é usada numa monocamada, pode ser facilmente examinada. Sexta, as células cultivadas são relativamente baratas e, desde que se use uma linhagem apropriada, o abastecimento é ilimitado.

Langeland<sup>28</sup> (1978) discutiu alguns aspectos relativos à falta de correlação entre os resultados obtidos nos testes iniciais, testes de implantação (subcutânea ou intramuscular) e testes de uso para a avaliação biológica dos materiais dentários. Afirmou que os testes iniciais deveriam ser utilizados para classificar os materiais dentários quanto à sua toxicidade, sob as condições do teste em questão. Esses testes também poderiam ser utilizados para avaliar vários componentes químicos do próprio material, auxiliando o fabricante no processo de seleção dos componentes menos tóxicos, e mantendo ainda as propriedades físicas ideais do material.

Os testes de implantação teriam importância clínica com relação aos materiais indicados para permanecer em contato direto e constante com o tecido conjuntivo, por exemplo, materiais endodônticos e implantes. Porém, seriam inadequados para os materiais restauradores. O teste de implantação poderia se tornar um teste de uso, no caso do amálgama, quando indicado para a obturação retrógrada de canais radiculares em cirurgias periapicais.

A Federation Dentaire Internationale (FDI), Commission on Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics<sup>17</sup> (1980), recomendou métodos e testes padronizados com o objetivo de avaliar a segurança dos materiais desenvolvidos para uso em humanos. Foram recomendados três níveis de testes considerados ideais para a aceitação dos novos produtos: testes iniciais, testes secundários (nos quais se inclui o teste de implantação subcutânea) e testes de uso. De acordo com as recomendações, cabe ao fabricante selecionar os testes apropriados de acordo com a utilização pretendida do material,

conhecendo e definindo o perfil de toxicidade do mesmo ou de seus componentes. Entretanto, a avaliação do material será mais efetiva se for respeitada a seqüência dos testes iniciais e secundários, antes da utilização dos testes de uso. Todos os novos materiais e reagentes desenvolvidos deveriam ser submetidos aos testes especificados. Se um material previamente aceito sofrer alterações maiores que 5% em qualquer componente, ele deverá ser submetido novamente aos testes de avaliação. Da mesma forma, se o fabricante recomendar mudanças na aplicação clínica ou novas maneiras de utilização para determinado material, esse deveria ser reavaliado pelos testes sugeridos, caso a nova aplicação ou utilização possa aumentar o risco de toxicidade para o paciente.

Autian<sup>5</sup> (1981), revisando a literatura sobre os métodos de implantação para a avaliação biológica dos materiais dentários, afirmou que um dispositivo médico ou odontológico, quando usado em contato com tecidos ou como implante, deve atender a dois princípios básicos: deve ser biofuncional durante o decorrer de seu uso e deve ser biocompatível com o biossistema no qual for colocado. Ressaltou a importância dos métodos de implantação e dos testes biológicos para a segurança dos pacientes que receberão os novos materiais que estão sendo introduzidos no mercado.

Quanto aos fatores que podem influenciar a resposta tecidual, destacou o tempo de avaliação, a forma física do implante, a técnica cirúrgica, certos tipos de substâncias químicas esterilizantes e o local onde o implante é colocado. O autor verificou que muitos locais para implantação em várias espécies de animais podem ser usados para

o teste de um novo biomaterial. Dois locais, subcutâneo, em ratos, e intramuscular, em coelhos, são os mais populares e de uso mais freqüente nos testes biológicos dos materiais dentários. Salientou que o implante em tecido subcutâneo de ratos é um método que tem a vantagem de ser relativamente simples e que pode ser realizado a um custo razoável.

Griffiths & Langeland<sup>18</sup> (1981) fizeram algumas considerações sobre a necessidade da avaliação biológica dos novos materiais antes da sua introdução no mercado. Salientaram não haver, até então, conhecimento e tecnologia suficientemente avançados para permitir uma discussão realmente expressiva sobre as avaliações biológicas necessárias. Eles discutiram alguns aspectos dos testes biológicos já conhecidos, sugerindo a utilização de três deles para que fosse determinado o perfil de toxicidade do material:

- testes iniciais: nos quais seria avaliada a toxicidade aguda *in vivo* e determinada a citotoxicidade e mutagenicidade *in vitro*.
- testes secundários: para determinar as reações biológicas *in vivo*, orientados para tecidos específicos sujeitos à manipulação na prática clínica.
- testes de uso: nos quais os estudos *in vivo* seriam desenvolvidos para imitar circunstâncias de aplicação clínica.

Concluíram que é necessário equacionar e racionalizar os testes biológicos, para que a avaliação final destes possa acrescentar benefícios reais ao estudo dos novos materiais e reduzir os riscos que eles possam representar aos pacientes.



Olsson et al.<sup>36</sup> (1981) implantaram 168 tubos de teflon, contendo cimentos para obturação de canais, no tecido subcutâneo de 42 ratos, para avaliar a biocompatibilidade desses materiais. Os implantes foram removidos após 14, 30, 90 e 180 dias. Na avaliação histológica dos tecidos, os autores observaram a ocorrência de reações inflamatórias agudas e crônicas, presença dos materiais em macrófagos, presença de células gigantes “tipo corpo estranho” e vasos. Esses resultados demonstraram que todos os cimentos eram irritantes e reabsorvíveis. A gravidade da resposta tecidual variou muito dentro de cada período de observação. Concluíram que o método de implantação subcutânea era muito prático para a avaliação qualitativa dos materiais endodônticos, fornecendo informações sobre a reação tecidual aos materiais implantados a nível celular. Entretanto, a quantificação dessa resposta tecidual seria possível somente para materiais que apresentassem diferenças acentuadas no grau de irritabilidade aos tecidos. Devido às variáveis existentes em cada técnica, os autores recomendaram que fosse evitada a correlação dos resultados obtidos com outros tipos de testes.

Van Leewwen et al.<sup>46</sup> (1982) avaliaram histologicamente a resposta pulpar após a utilização de dois adesivos dentinários (Scotchbond - 3M Co. e Clearfil - Kurary Co.) e restauração com resina composta. Os autores prepararam cavidades Classe V em 112 dentes de quatro macacos adultos (*M.Fasicularis*), restaurando-as com os respectivos adesivos e resina composta, sem utilização de forramento. Os dentes do grupo controle receberam forramento com hidróxido de cálcio antes da restauração. Os animais foram sacrificados

após 15, 28, 84 e 168 dias; os dentes foram removidos e processados para análise histológica. Não foi verificada nenhuma reação grave nos dentes restaurados com os dois adesivos dentinários. A maioria das reações observadas variou de nenhuma a discreta quando os adesivos foram utilizados sem forramento, em qualquer período de avaliação.

Kawahara<sup>26</sup> (1982) fez uma comparação entre os resultados obtidos da avaliação biológica *in vitro* e *in vivo* de alguns materiais dentários, observando muitas discrepâncias entre os mesmos. Concluiu que essa fraca correlação entre os resultados obtidos ocorria devido a muitas variáveis, tais como: emprego de diferentes metodologias, dificuldades técnicas, fatores histológicos e bacterianos. O autor salientou as dificuldades para a obtenção de padronizações biológicas, devido ao fato de que os testes empregados utilizam sistemas vivos como parâmetros para avaliação, os quais possuem um balanço dinâmico entre suas atividades funcionais. De acordo com o autor, muitos fatores podem influenciar os resultados dos testes biológicos *in vivo*, tais como: trauma cirúrgico, estrutura do tecido, infecção, interpretação dos resultados e irritação provocada pelo material testado.

Wennberg et al.<sup>48</sup> (1983) empregaram três tipos de testes (testes *in vitro*, teste de implantação subcutânea e testes pulpares) para a avaliação biológica de três materiais restauradores (cimento de óxido de zinco e eugenol e duas resinas compostas). Os dados obtidos da avaliação revelaram grande variação entre os resultados. Na opinião dos autores, os testes *in vitro* e o teste de implantação subcutânea fornecem informações valiosas sobre as características biológicas dos

materiais dentários, mas a avaliação biológica final dos materiais restauradores deveria ser realizada por meio de estudos pulpares histopatológicos. Enfatizaram que cada tipo de teste possui méritos específicos, e isto deveria ser considerado no processo de seleção dos mesmos.

Johnson et al.<sup>24</sup> (1983) realizaram um estudo para comparar a sensibilidade relativa dos métodos de teste de biocompatibilidade *in vitro* e *in vivo*. Foram medidas as respostas celulares de 12 linhagens padronizadas de células a vinte materiais representando uma dada faixa de toxicidade. Os resultados dos ensaios foram comparados com os obtidos para os mesmos materiais *in vivo*, usando teste de implantação intramuscular em coelhos por cinco dias. A concordância entre os resultados, usando as linhagens de células e o teste de implantação intramuscular em coelhos, ficou na faixa de 60 a 90% para todos os materiais estudados.

A International Organization for Standardization - ISO/TR 7405<sup>21</sup> (1984) recomendou 17 tipos de testes para a avaliação biológica dos materiais dentários, classificando-os de acordo com cada nível de avaliação em testes iniciais, testes secundários e testes de uso.

\* As recomendações relativas ao teste de implantação subcutânea, classificado como teste secundário, incluíram: objetivo do teste, número de animais, preparo dos materiais para teste, técnica de implantação, períodos de observação, preparações histológicas, critérios para avaliação e interpretação dos resultados.

Os períodos de observação recomendados foram 2 e 12 semanas e as reações teciduais foram classificadas em discretas, moderadas ou graves, dependendo do número, tipo e localização das células inflamatórias. Os critérios adotados para a avaliação das reações teciduais foram:

- nenhuma a mínima reação tecidual: em 2 e 12 semanas, o tecido apresenta-se bem organizado e a reação inflamatória, se presente, não é maior na região próxima à extremidade do tubo (região em contato com o material) que a reação existente na região mediana do mesmo.
- reação tecidual moderada: em 2 semanas, observam-se algumas células inflamatórias próximas à extremidade do tubo e poucas ao longo da secção mediana do mesmo. O tecido adjacente ao material testado mantém sua estrutura, mas são observados leucócitos, linfócitos, plasmócitos, macrófagos e células gigantes “tipo corpo estranho” ocasionais. Em 12 semanas, a região próxima à extremidade do tubo apresenta algumas células inflamatórias crônicas, linfócitos, plasmócitos, macrófagos e células gigantes “tipo corpo estranho” ocasionais, com presença de tecido fibroso apenas ao longo da secção mediana do tubo.
- reação tecidual grave: em 2 semanas, o tecido próximo à extremidade do tubo apresenta perda de estrutura, com acúmulo de leucócitos neutrófilos e linfócitos. O tecido ao longo da secção mediana do tubo apresenta-se fibroso e com ausência de inflamação. Em 12 semanas, o tecido próximo à extremidade do tubo pode mostrar-se parcialmente reestruturado, mas apresenta acúmulo de linfócitos, plasmócitos,

macrófagos, e células gigantes “tipo corpo estranho” ocasionais (inflamação crônica). A presença constante de polimorfonucleares neutrófilos indica desintegração tecidual prolongada, causada pelo material. O tecido ao longo da secção mediana do tubo mostra-se fibroso e com ausência de inflamação.

Lemons & Natiella<sup>30</sup> (1986) consideraram que a biocompatibilidade e o fator funcional de várias substâncias sintéticas, nos implantes, são questões básicas no desenvolvimento de biomateriais. Na opinião dos autores, biocompatibilidade é um termo amplo, que abrange várias áreas, incluindo propriedades físicas, mecânicas, químicas e elétricas dos materiais. Salientaram que a biocompatibilidade dos materiais pode ser verificada por meio de vários testes e metodologias; entretanto, em todos os casos, o hospedeiro humano tem sido o teste final.

Phillips<sup>39</sup> (1986) resumiu e descreveu didaticamente a história relativa ao avanço no conhecimento dos materiais dentários, sua manipulação, especificações, normas e padronizações. Destacou que o objetivo da American Dental Association (ADA), até 1965, foi estabelecer padrões e especificações para materiais dentários e certificar os produtos nelas enquadrados. A partir de 1966, essas responsabilidades passaram para o Council on Dental Materials and Devices da ADA (agora chamado Council on Dental Materials, Instruments and Equipment). Essas especificações permitem avaliar a qualidade dos materiais dentários. Elas apresentam exigências, tais como propriedades físicas e químicas do material que possam assegurar que ele será satisfatório se empregado adequadamente pelo

dentista. O Council conduz também outro programa para a avaliação de produtos dentários, conhecido como Programa de Aceitação. Essa atividade aplica-se a produtos cuja segurança e eficiência foram estabelecidas por apropriada avaliação biológica, laboratorial e/ou clínica, ou quando padrões e especificações físicas não são correntemente existentes.

As especificações existentes são periodicamente revistas com a finalidade de refletirem as alterações nas fórmulas dos produtos e os novos conhecimentos relativos ao desempenho dos materiais na boca. Uma vez formulada uma especificação para determinado material, qualquer fabricante pode certificar-se junto ao Council se o seu produto preenche as exigências daquela especificação. O produto é então testado e, se satisfizer as exigências da especificação, seu nome comercial e o do fabricante são publicados na revista da American Dental Association. Ao fabricante, permite-se imprimir no rótulo do produto que ele foi certificado pela ADA.

Devido ao grande interesse internacional no estabelecimento de especificações para materiais dentários, duas organizações estão trabalhando nesse objetivo: a Federation Dentaire Internationale (FDI) e a International Organization for Standardization (ISO). A FDI iniciou e apoiou, ativamente, um programa para formulação de especificações internacionais para materiais dentários. Como resultado desse trabalho, foram adotadas nove especificações para materiais dentários e dispositivos odontológicos.

A ISO é uma organização internacional, não governamental, cujo objetivo é o desenvolvimento de padrões internacionais. Esse grupo é composto de organizações de padrões nacionais de 84 países. A solicitação pela FDI à ISO de que esta considere as especificações da FDI para materiais dentários, como padrões ISO, originou a formação de um comitê ISO/TC 106-Odontologia. A responsabilidade desse comitê consiste em padronizar métodos de testes e especificações para materiais dentários, instrumentos, aparelhos e equipamentos.

O autor destacou que o benefício de tais especificações para a profissão odontológica tem sido inestimável. O conhecimento, pelo dentista, das exigências dessas especificações é importante para que ele possa capacitar-se a reconhecer as limitações dos materiais dentários com os quais trabalha.

A American Dental Association (ADA), Council on Dental Materials, Instruments and Equipment<sup>3</sup> (1987) publicou uma atualização sobre os sistemas adesivos dentinários, destacando alguns aspectos como composição, avaliação biológica, resistência adesiva, microinfiltração, adaptação marginal e avaliação clínica. A avaliação biológica desses materiais tem sido conduzida por meio de observações histológicas das reações pulpares em dentes de animais e pré-molares humanos. Na maior parte dessas observações, pode-se notar reação pulpar discreta ou ausência de reação, demonstrando que os sistemas adesivos dentinários parecem ser biocompatíveis. Entretanto, de acordo com o Conselho, o número de pesquisas sobre a avaliação biológica dos adesivos dentinários é restrito. A maioria dos resultados está em

resumos de apresentações em reuniões científicas. Os resultados e conclusões das avaliações biológicas são variados e não incluem todos os sistemas adesivos dentinários.

Browne<sup>7</sup> (1988) afirmou que a necessidade de avaliação biológica dos materiais dentários era inquestionável porque muitos materiais, particularmente os materiais restauradores, poderiam permanecer em contato com tecidos periodontais, periapicais e mucosa oral por muitos anos. Portanto, seria essencial avaliar esses materiais. Entretanto, salientou que os testes biológicos *in vitro* (teste de cultura de células) utilizam normalmente um único tipo celular e não conseguem reproduzir as respostas metabólicas, inflamatórias e imunológicas que ocorrem *in vivo*. Os testes biológicos *in vivo*, por sua vez, envolvem uma variedade de células, o que pode dificultar a interpretação histológica dos resultados obtidos.

Hensten-Pettersen<sup>20</sup> (1988) fez uma comparação entre os métodos utilizados para avaliar a citotoxicidade dos materiais dentários, verificando que pouca atenção foi dedicada a esse tipo de estudo nos últimos trinta anos.

Os testes disponíveis para essa avaliação (testes iniciais, secundários e testes de uso) foram desenvolvidos e modificados com o objetivo de encontrar maneiras para expressar o potencial tóxico dos materiais dentários. Apesar das diferenças técnicas e metodológicas entre os testes, o autor enfatizou a importância de cada um deles, exemplificando que um material pode mostrar-se biocompatível em determinada situação e não em outra (como o cimento de óxido de



zinco e eugenol nos testes *in vitro* e *in vivo*). Sugeriu que os testes *in vitro* sejam acompanhados por estudos *in vivo*, para que seja possível uma avaliação biológica adequada dos componentes tóxicos e não tóxicos dos materiais dentários.

Kallus et al.<sup>25</sup> (1988) propuseram um método estatístico para a avaliação biológica das reações teciduais aos materiais dentários, por meio de imagens fotográficas das secções histológicas. Com essa finalidade, implantaram tubos de polietileno, contendo vários materiais no tecido subcutâneo de cobaias e avaliaram as reações teciduais observadas nas extremidades dos tubos. Selecionaram vinte fotografias obtidas de secções histológicas dessa região, submetendo-as à avaliação por dez investigadores diferentes. Os investigadores classificaram as reações presentes nas fotografias em ordem crescente de gravidade e os resultados foram analisados pelo Coeficiente de Correlação de Spearman e teste de Wilcoxon. De modo geral, a classificação realizada pelos investigadores não mostrou diferenças estatisticamente significantes.

Os autores afirmaram que esse método permitiria uma boa reprodutibilidade dos resultados entre os investigadores, na avaliação biológica quantitativa das reações teciduais, desde que os mesmos estivessem devidamente calibrados para realizar essa avaliação. Entretanto, enfatizaram que o método proposto poderia suplementar, mas não poderia substituir a análise microscópica dos tecidos, a qual possibilita a avaliação biológica qualitativa das reações teciduais.

Meryon & Brook<sup>31</sup> (1989) utilizaram cortes de dentina, de 0,1mm e 0,5mm de espessura, para testar a citotoxicidade *in vitro* de três sistemas adesivos (Scotchbond 2 - 3M, Gluma - Bayer, Tripton - ICI Dental). Os cortes de dentina foram interpostos entre os materiais e uma cultura de células (fibroblastos do rim de um rato jovem). Os autores verificaram que todos os materiais foram significativamente citotóxicos quando comparados ao controle (selamento do corte de dentina com cera não tóxica), independentemente da espessura de dentina interposta. Nos cortes de dentina com 0,1mm de espessura, o Gluma mostrou-se mais citotóxico, apresentando somente 26,9% de células viáveis remanescentes quando comparado ao controle. O Scotchbond 2 mostrou 54,2% de células remanescentes e o Tripton foi o menos citotóxico, mostrando 68,8% de células viáveis remanescentes quando comparado ao controle. Nos cortes de dentina com 0,5mm de espessura, a classificação entre o Gluma e o Scotchbond 2 mostrou-se inversa. O Tripton, Gluma e Scotchbond 2 mostraram 70,8%, 66,6% e 52,6% de células viáveis remanescentes, respectivamente, quando comparados ao controle.

Wilson<sup>50</sup> (1990) fez uma revisão sobre as principais formas de investigações laboratoriais e estudos clínicos dos materiais dentários, discutindo o valor e a importância de cada uma dessas formas de avaliação no desenvolvimento das pesquisas sobre esses materiais. Concluiu que todas as formas de avaliação fornecem informações que contribuem para o entendimento e conhecimento dos materiais. Afirmou que a correlação entre os resultados das investigações laboratoriais e estudos clínicos é preocupante e enfatizou

que, com raras exceções, as avaliações são limitadas e na maioria dos casos, específicas para aspectos como comportamento e desempenho dos materiais dentários.

Mjör<sup>33</sup> (1990) discutiu alguns testes biológicos utilizados para avaliar os materiais restauradores, concluindo que existe uma variação considerável na metodologia dos testes, e que ainda não há um consenso universal que prevaleça com relação a qual teste ou testes são os mais apropriados para a observação dos efeitos biológicos dos materiais restauradores. A toxicidade dos materiais restauradores pode ser avaliada em níveis diferentes: citotoxicidade determinada por técnicas de cultura de células *in vitro*; toxicidade tecidual em animais, determinada pelo implante dos materiais no tecido subcutâneo ou muscular, ou observando as reações pulpares no chamado teste de uso, após inserção das restaurações em dentes humanos ou animais. O autor salientou a necessidade da realização de vários testes para que se possa estabelecer um perfil de toxicidade de um material restaurador antes da sua introdução no mercado.

Tyas<sup>44</sup> (1991) discutiu alguns aspectos relativos às normas para a avaliação dos materiais dentários, salientando as origens dessas normas, os esquemas para o reconhecimento dos produtos, o trabalho das entidades internacionais (FDI/ ISO). e os testes necessários para que um determinado material possa ser lançado no mercado. Dentre os testes, relatou as vantagens e desvantagens apresentadas pelos testes biológicos nos três níveis de avaliação. Nos testes iniciais, envolvendo o método de cultura de células *in vitro*, classificou como vantagens a

rapidez na obtenção dos resultados, simplicidade técnica e baixo custo, mas advertiu que esse método não simula a situação clínica porque não é possível verificar a resposta inflamatória ou imunológica. Quanto aos testes secundários (testes em animais), considerou que o método era caro, consumia muito tempo e freqüentemente ocorriam dificuldades na interpretação histológica dos resultados. Quanto aos testes de uso, observou que eles não avaliam os problemas decorrentes da microinfiltração clínica do material restaurador, sendo isso uma grande desvantagem.

Johnson et al.<sup>23</sup> (1991) fizeram uma revisão sobre 11 sistemas adesivos dentinários, apresentando informações sobre os produtos e recomendações quanto às suas aplicações. Segundo os autores, vários desses produtos já estão disponíveis para os dentistas, mas continuam sendo submetidos a alterações na tentativa de melhorar seu desempenho clínico. Infelizmente, isso faz com que muitos deles sejam liberados para uso antes mesmo que as avaliações clínicas, sugeridas pela ADA, tenham sido concluídas.

Os autores recomendaram cautela aos dentistas quando da utilização dos sistemas adesivos, sugerindo-lhes um bom isolamento do campo operatório, observação cuidadosa das instruções do fabricante e utilização de um forramento nas cavidades profundas. Salientaram que, embora o número de pesquisas disponíveis sobre a avaliação biológica dos sistemas adesivos seja restrito, a maioria dos resultados tem mostrado que eles não causam problemas pulpares. Algumas avaliações histopatológicas, usando primatas e testes de citotoxicidade

*in vitro*, estão confirmando a segurança biológica de várias substâncias químicas empregadas nos sistemas adesivos.

A International Organization for Standardization- ISO/TC 10993-1<sup>22</sup> (1992) fez uma publicação subdividida em 12 partes sobre a seleção de testes para a avaliação biológica dos materiais e dispositivos utilizados na área médica e odontológica. Nessa publicação, foram discutidos princípios gerais aplicados à avaliação biológica dos materiais e dispositivos, aspectos relativos aos locais de avaliação, período de duração dos experimentos e características gerais dos testes recomendados.

Os testes de implantação foram recomendados para avaliar os efeitos patológicos locais sobre tecidos vivos, a nível macroscópico e microscópico, de materiais experimentais ou produtos finais implantados cirurgicamente em tecidos apropriados, de acordo com a aplicação pretendida dos mesmos. Os materiais ou produtos finais deveriam ser reavaliados biologicamente na ocorrência das seguintes situações:

- mudanças na origem ou especificação dos materiais utilizados na manufatura do produto.
- alterações na formulação, processamento, condicionamento ou esterilização do produto.
- alterações no produto final durante o processo de armazenagem.
- alterações na utilização pretendida do produto.

- qualquer evidência de que o produto possa causar efeitos adversos quando utilizado em humanos.

Erickson<sup>15</sup> (1992), estudando as interações de superfície entre os sistemas adesivos dentinários e a dentina, afirmou que o processo de adesão ocorre através de um mecanismo de união micromecânica e química. Muitos dos novos sistemas adesivos dentinários são constituídos por três componentes aplicados separadamente, ou em alguns casos, por dois componentes combinados. Os três componentes são: a) condicionador, b) *primer* e c) adesivo. Uma união completa ocorre quando o agente de união penetra na superfície dentinária após a ação sequencial do condicionador e do *primer*, sendo posteriormente polimerizado. Esse processo resulta numa camada de dentina reforçada com resina, ou camada híbrida, constituída de polímero, colágeno e hidroxiapatita. A formação de uma boa união requer que os componentes do sistema adesivo sejam otimizados para complementar um ao outro, e que eles sejam adequadamente aplicados.

Watts & Paterson<sup>47</sup> (1992) revisaram e descreveram detalhadamente os testes iniciais e secundários para a avaliação biológica dos materiais dentários, dando ênfase especial aos cimentos obturadores de canais radiculares. Relataram que o primeiro objetivo das normas para padronização dos testes era a proteção dos seres humanos e o segundo, a tentativa de aumentar o bem-estar e saúde dos animais empregados nestes testes, tentando minimizar seu número, assim como o tempo de duração dos experimentos.

Os autores observaram que ocorrem variações entre os resultados obtidos em diferentes centros de pesquisas para os mesmos materiais, dependendo do teste empregado. Sugeriram que fosse tentado um refinamento nos detalhes dos métodos de teste *in vitro* para permitir sua reprodutibilidade nos diferentes centros de pesquisa e possibilitar uma relação mais confiável entre os resultados obtidos nos testes iniciais, secundários e testes de uso. Concluíram que a principal vantagem dos testes secundários (testes de implantação subcutânea, muscular ou óssea) sobre os testes iniciais, usando cultura de células, é a possibilidade de observação da reação inflamatória e resposta imunológica. Entretanto, o procedimento de implantação produz uma ferida cirúrgica, o que resulta em trauma e possibilidade de infecção. Baseados nisso, os autores sugeriram que a observação da resposta tecidual aos materiais implantados só deveria ser realizada após a total reparação da ferida cirúrgica, o que ocorrerá, segundo os mesmos, duas ou três semanas após o implante.

Burger & Garone Netto<sup>10</sup> (1992) fizeram um levantamento sobre os adesivos dentinários, comentando suas diferentes formulações químicas para uma boa adesão ao tecido dentinário e tentando, assim, compreender o seu processo de evolução.

Segundo os autores, em 1983, surgiu um adesivo dentinário baseado em éster fosfórico de BIS-GMA (bisfenol glicidil metacrilato) o Scotchbond (3M) e, em 1984, ele passou a ser também fotoativado. Apresentou-se como um bom adesivo dentinário, segundo resultados clínicos, mas sua característica hidrofóbica limitou o seu uso.

Em 1984, houve a introdução do Bondlite (Kerr), sendo que esse produto apresentava uma mistura de monômeros acrílicos fosfonatados e HEMA (hidroxietilmetacrilato) , dissolvidos em um solvente orgânico.

No ano de 1987, a 3M lançou o Scotchbond 2 com um sistema constituído por um *scotchprep* (*primer* de ácido maleico a 2,5% e HEMA a 58,5% em água) seguido de um adesivo (62,5% de BIS-GMA e 37,5% HEMA). Nesse sistema adesivo dentinário, a aplicação do *primer* modifica a *smear layer* , iniciando a adesão que é complementada pelo adesivo.

Em 1989, a Kerr apresentou o XR Bond, um sistema composto por um *XR primer* (*primer* de éster dimetacrílico fosfonado a 3,75 % , álcool etílico a 50 % e água a 46 %) e pelo *XR bond* (éster dimetacrílico fosfonado e uretano dimetacrilato). Nesse sistema adesivo dentinário, a aplicação do *XR primer* modifica a *smear layer*, iniciando a adesão que é complementada após a aplicação do *XR bond*.

Em maio de 1992, a 3M lançou no mercado o Scotchbond Multi-Purpose, um sistema adesivo que preconiza o uso do ácido maleico a 10% para tratamento simultâneo da dentina e esmalte, seguindo-se a aplicação de um *primer* (HEMA e copolímero de ácido polialquenóico) e de um adesivo (HEMA e BIS-GMA). Visa à utilização nas situações mais difíceis de se conseguir uma adesão,



como a dentina esclerótica e dentina úmida não contaminada. Para a utilização desse sistema adesivo, deve-se remover toda a *smear layer*.

Stanley<sup>40</sup> (1992) fez uma revisão cronológica sobre a história do desenvolvimento dos controles, padronizações e guias para a avaliação biológica dos materiais dentários, verificando que atualmente esses materiais estão sendo tratados como drogas, e por isso devem satisfazer os requisitos de segurança e eficácia das drogas e dispositivos médicos. Biocompatibilidade é a palavra chave. O autor classificou e descreveu os tipos de testes disponíveis (iniciais, secundários e testes de uso), salientando que nem mesmo uma grande quantidade de estudos experimentais pode garantir segurança absoluta para qualquer substância. Entretanto, as avaliações biológicas fornecem dados por meio dos quais podem ser feitas projeções razoáveis e previsões sobre as condições nas quais o produto possa ser seguramente utilizado.

Elbaum et al.<sup>14</sup> (1992), avaliando a biocompatibilidade de um adesivo dentinário de terceira geração (Scotchbond 2- 3M Dental Products Div.), prepararam e restauraram cavidades Classe V em 32 pré-molares humanos a serem extraídos por razões ortodônticas. Cinco dentes, escolhidos ao acaso, foram usados como controles e restaurados com cimento IRM (3M Dental Products Div.) conhecido por ser bem tolerado pelo complexo dentina-polpa. Os dentes remanescentes foram divididos em dois grupos:

- grupo A - período curto : 1 a 4 semanas (13 dentes) e

- grupo B - período longo : 5 a 52 semanas (14 dentes).

A observação histológica dos tecidos pulpareis revelou, em sete casos, reações inflamatórias discretas, em cinco deles reações moderadas e uma reação grave no período curto; enquanto onze casos apresentaram reações inflamatórias discretas e três moderadas no período longo. Esses resultados demonstraram que a intensidade das reações inflamatórias decrescia com o tempo. Algumas bactérias foram observadas na interface dente-restauração (somente em cinco dentes), mas nenhuma correlação pôde ser estabelecida entre a presença das bactérias e a intensidade das reações. Os autores concluíram que o material era bem tolerado pelo complexo dentina-polpa e que, embora somente uma reação grave tenha sido observada, recomendaram a utilização de um forramento nas cavidades mais próximas à polpa.

Cox<sup>13</sup> (1992) fez uma revisão na literatura e discutiu a influência de vários fatores sobre a resposta pulpar, como: composição química dos materiais, procedimentos operatórios, infecção bacteriana, microinfiltração na interface dente-restauração e condicionamento ácido da dentina. O autor verificou que todos esses fatores podem influenciar a resposta pulpar; entretanto a inflamação e necrose da polpa estão sendo associadas com maior frequência ao problema da infecção bacteriana e microinfiltração. Salientou que o condicionamento ácido da dentina, seguido da utilização dos demais componentes dos sistemas adesivos atuais, fornecem um selamento satisfatório contra a microinfiltração bacteriana, e nenhuma resposta pulpar grave tem sido verificada após o emprego desses materiais. O

autor verificou nessa revisão que os sistemas adesivos atuais estão-se mostrando biologicamente aceitáveis quando avaliados nos testes de uso recomendados pela ISO, FDI e ADA.

Hanks et al.<sup>19</sup> (1992) estudaram a citotoxicidade *in vitro* de dois sistemas adesivos dentinários (Gluma - Columbus Dental Division e Scotchbond 2 - 3M) e dois componentes desses sistemas (glutaraldeído e HEMA - hidroxietilmetacrilato) sobre cultura de células (fibroblastos). Os autores testaram várias concentrações de cada material e seus componentes e verificaram que os dois sistemas adesivos, bem como seus componentes, apresentaram efeitos citotóxicos sobre cultura de células, provocando halos de inibição do crescimento celular, dependendo da concentração utilizada. Na concentração disponível comercialmente, o glutaraldeído mostrou-se muito mais citotóxico que o HEMA, sendo que, o Gluma e o Scotchbond 2 mostraram citotoxicidade semelhante.

White et al.<sup>49</sup> (1992) prepararam 112 cavidades Classe V nos dentes de cinco macacos adultos para avaliar as reações pulpares após condicionamento ácido da dentina, utilização de dois adesivos dentinários (All-Bond e Scotchbond 2) e restauração com resina composta. O IRM (contendo eugenol) e outros cimentos ácidos foram utilizados como controles. As avaliações pulpares foram realizadas após 3, 25 e 80 dias, segundo as recomendações da ISO, FDI e ADA para testes de uso. Os dentes restaurados com cimentos ácidos apresentaram reações pulpares mais graves em todos os períodos de observação. Os autores associaram essas reações à presença de

bactérias na dentina remanescente na parede axial das cavidades. Os dentes restaurados com All-Bond e Scotchbond 2 não apresentaram inflamação pulpar ou presença de infiltração bacteriana após 25 e 80 dias.

Bruce et al.<sup>8</sup> (1993) sugeriram a utilização de adesivos dentinários em cirurgias periapicais. Considerando o fato de que esses materiais permaneceriam em contato direto com tecidos vivos, recomendaram que fosse avaliado o potencial citotóxico desses adesivos antes de sua utilização clínica. Nesse estudo, os autores utilizaram o método de cultura de células (células de rins de macacos) para avaliar a citotoxicidade do amálgama, Scotchbond 2 (3M Dental Products Division), Tenure, Gluma (Columbus Dental), Caulk Universal Bond 2 (Caulk Co) e Morita Clearfil (J. Morita USA). A citotoxicidade foi determinada, medindo-se a zona de inibição do crescimento celular ao redor dos materiais após 24 horas, 7, 15 e 30 dias. Inicialmente, todos os materiais apresentaram-se citotóxicos, com exceção do amálgama e Tenure; entretanto, a citotoxicidade do amálgama aumentou com o tempo (0,0mm em 24 horas para 12mm em 30 dias).

Os autores não puderam fazer qualquer correlação entre a composição e a citotoxicidade dos adesivos, mas observaram nesse estudo que os adesivos testados, com exceção do Tenure, eram citotóxicos para cultura de células de rins de macacos. A magnitude da citotoxicidade produzida pelos adesivos dentinários decrescia com o tempo, mas com alguns materiais (Scotchbond 2) ainda podia ser

mensurável após 30 dias, indicando que eles podem ter citotoxicidade prolongada. Os autores recomendaram que a extrapolação desses resultados deve ser evitada até que outros estudos *in vitro* e *in vivo* (implantes em animais) sejam conduzidos para determinar os efeitos citotóxicos, a longo prazo, desses materiais, antes de julgá-los aceitáveis para o uso em cirurgias endodônticas.

Al-Dawood & Wennberg<sup>1</sup> (1993) fizeram uma revisão sobre as informações disponíveis a respeito dos adesivos dentinários, procurando enfatizar principalmente suas características biológicas. Encontraram na literatura uma grande quantidade de trabalhos publicados sobre o mecanismo de adesão, resistência adesiva e desempenho clínico dos adesivos dentinários, mas pouca atenção sendo dirigida para a avaliação da biocompatibilidade desses materiais. Os trabalhos relacionados à biocompatibilidade geralmente utilizavam testes de cultura de células ou testes de uso dos materiais em dentes de animais (cães ou macacos) ou dentes humanos. Os autores salientaram que os testes biológicos dos adesivos dentinários são processos delicados e complexos, porque as propriedades físicas desses materiais podem influenciar os resultados. Uma adesão fraca, por exemplo, pode levar à formação de lacunas nas restaurações, permitindo microinfiltração e crescimento bacteriano sob o material restaurador. Os efeitos biológicos dos adesivos dentinários, relacionados na literatura, foram classificados de nenhum a graves, dependendo de vários fatores. Os autores verificaram que existem diferentes opiniões sobre a verdadeira causa das respostas pulpares adversas, relatadas nos

testes biológicos. Eles concluíram que o efeito irritante sobre os tecidos pulpares poderia ser causado pelos próprios adesivos dentinários, pelo crescimento bacteriano na interface dente-restauração, ou pela combinação de ambos. Embora alguns dos novos adesivos tenham-se mostrado biologicamente aceitáveis, outros podem causar irritação ao tecido pulpar. Dessa maneira, uma proteção pulpar nas partes mais profundas da cavidade seria recomendada.

Os autores não encontraram nenhum estudo biológico sobre os adesivos dentinários de quarta geração e preferiram não incluí-los no seu trabalho de revisão. Afirmaram que um conhecimento bastante sólido sobre os aspectos biológicos dos adesivos dentinários seria importante para sua utilização apropriada na prática dental e procuraram incentivar outros trabalhos sobre os testes *in vivo* desses materiais.

Chain & Leinfelder<sup>11</sup> (1993) revisaram a literatura sobre adesivos dentinários e seus mecanismos básicos de ação, procurando informar os profissionais sobre o estágio atual desses materiais. Os autores verificaram que o mercado odontológico dispõe atualmente de uma ampla variedade de opções, o que acaba confundindo os profissionais e dificultando o processo de seleção. Os sistemas de adesão vêm a cada dia tornando-se mais complexos no que tange à sua química, entretanto, mais simples quanto à sua aplicação. Alguns sistemas são extremamente simples de se manusear e requerem poucos passos operatórios, como, por exemplo, Scotchbond Multi-Purpose (3M). Alguns deles oferecem vantagens como liberação de flúor e

radiopacidade, como, por exemplo, Optibond (Kerr). Segundo os autores, esses sistemas adesivos dentinários constituem-se em aprimoramentos importantes na prática clínica, mas necessitam ainda de maiores investigações quanto à sua efetividade.

Leinfelder<sup>29</sup> (1993) revisou e discutiu alguns conceitos sobre o desenvolvimento dos sistemas adesivos dentinários. Concluiu que as maiores inovações em adesivos dentinários ocorreram recentemente, a partir da possibilidade de formação da chamada camada híbrida, resultado de uma combinação entre o colágeno e o sistema adesivo.

Segundo esse autor, a camada híbrida é uma barreira muito eficiente contra a invasão de microorganismos ou qualquer componente químico das resinas compostas. Dessa maneira, utilizando os adesivos dentinários capazes de formar a camada híbrida, o dentista clínico conseguirá isolar o complexo dentina-polpa da cavidade oral. O autor afirmou que os sistemas adesivos atuais são consideravelmente melhores que os seus antecessores, porque, além de apresentarem um excelente potencial de adesão, eles têm-se mostrado eficientes no isolamento dos processos odontoblásticos e polpa do ambiente oral, evitando o processo de necrose pulpar e eliminando a sensibilidade pós-operatória.

Bouillaguet et al.<sup>6</sup> (1993) realizaram um estudo *in vitro* para avaliar a citotoxicidade de dois sistemas adesivos, Scotchbond Multi-Purpose (3M) e A.R.T. Bond (Coltene), sobre cultura de células

preparadas de tecido pulpar humano e colocadas em contato com os materiais de acordo com dois métodos. No método direto, os dois componentes (*primer* e adesivo) de cada sistema adesivo foram colocados diretamente sobre as camadas de células. No método indireto, foram interpostos cortes de dentina de 0,3 e 1mm de espessura entre os agentes adesivos e as células. Após 8 dias, a citotoxicidade foi avaliada quantitativamente pela contagem das células vivas remanescentes. Os resultados indicaram que as diferentes soluções de *primer*, quando colocadas em contato direto com as células, foram mais citotóxicas que os adesivos. No contato indireto através da dentina, ambos os sistemas adesivos exibiram toxicidade semelhante. A citotoxicidade dos sistemas adesivos foi consideravelmente reduzida quando se aumentou a espessura do corte de dentina interposto entre os materiais e as células. Os autores afirmaram que esse tipo de experimento poderia, no futuro, melhorar a correlação entre os resultados dos testes *in vitro* e *in vivo* dos sistemas adesivos.

Chain et al.<sup>12</sup> (1994) fizeram um estudo *in vitro* para determinar a resistência ao cisalhamento do sistema adesivo Optibond Multi-Use (Kerr). Nesse estudo, os autores descreveram detalhadamente a composição química desse sistema adesivo. Os componentes do sistema são: Optibond *primer*, adesivo ligh-cure, adesivo dual-cure e pasta dual-cure. O Optibond *primer* é constituído por 2 HEMA (2 hidroxietilmetacrilato), PAMM (2 metacriloxietil fitalato), GPDM (glicerol fosfato dimetacrilato), álcool etílico e água. O adesivo ligh-cure é uma resina fotopolimerizável que mistura



componentes hidrofílicos e hidrofóbicos, tais como: TEGDM (trietilenoglicol dimetacrilato), UDM (uretano dimetacrilato) e GPDM (glicerol fosfato dimetacrilato). O adesivo dual-cure é uma resina líquida catalisadora que contém BIS-GMA (bisfenol A glicidil metacrilato) e 2 HEMA (2 hidroxietilmetacrilato). A pasta dual-cure contém vidro de bário alumínio borosilicato, sílica, di-sódio hexafluorsilicato, 2 HEMA e glicerol dimetacrilato.

### **3 PROPOSIÇÃO**

Considerando-se que:

- os sistemas adesivos dentinários atuais estão sendo indicados para múltiplas utilizações;
- a avaliação biológica desses sistemas tem sido realizada por meio de testes de cultura de células *in vitro* ou testes de uso (observações histológicas das reações pulpares em dentes de animais ou pré-molares humanos);
- o número de pesquisas, avaliando as propriedades biológicas desses materiais, é restrito, sendo que, os resultados e conclusões dessas pesquisas são variados e não incluem todos os sistemas adesivos dentinários;
- as alterações na utilização de um produto implicam em sua reavaliação biológica,

Propomo-nos a:

- verificar as reações do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos ao implante de dois adesivos dentinários, procurando contribuir para a avaliação da biocompatibilidade desses materiais.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Preparo do material para implantação

Na presente pesquisa foram utilizados 240 tubos de polietileno (Jonhson & Jonhson), medindo 10mm de comprimento e 1,5mm de diâmetro interno. Os tubos de polietileno tiveram uma de suas extremidades fechada por pressão exercida com uma pinça clínica para algodão aquecida em lamparina à álcool. Esses tubos foram lavados em álcool 77°GL (Terapêutica - Farmácia de Manipulação) e água destilada, e esterilizados quimicamente por imersão em solução de glutaraldeído a 2% (Cidex - Jonhson & Jonhson), por 10 horas, segundo Fantinato et al.<sup>16</sup> (1994). Após esterilização, foram lavados em água destilada estéril e secos em gaze estéril.

Os 240 tubos de polietileno foram divididos em três grupos de oitenta: um grupo controle no qual os tubos permaneceram vazios, um grupo preenchido com o adesivo dentinário Scotchbond Multi-Purpose (3M) e o terceiro grupo preenchido com o adesivo dentinário Optibond Multi-Use -light cure- (Kerr). Os adesivos dentinários foram colocados no interior dos tubos de polietileno com auxílio de dois pincéis número 00 (Tigre) e lentulos para canais (Maillefer) previamente esterilizados, sendo fotopolimerizados (Degulux - aparelho de fotopolimerização de luz visível - Degussa) de acordo com as instruções do fabricante.

## 4.2 Seqüência dos procedimentos de implantação

Para os procedimentos de implantação, foram utilizados sessenta ratos machos (*Rattus norvegicus*, *albinus* - Rodentia Mammalia) com peso corpóreo médio de 180 gramas e 60 dias de idade. Os animais foram provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos.

Os sessenta ratos foram divididos, ao acaso, em três grupos de vinte: um grupo controle e dois grupos experimentais. Cada grupo foi subdividido em quatro subgrupos de cinco animais, um para cada período de observação (14 dias, 30 dias, 60 dias e 84 dias). Os ratos foram anestesiados por inalação de éter sulfúrico (CAAL - Casa Americana de Artigos para Laboratório - Ltda) e em seguida foi realizada a tricotomia da região dorsal dos animais. Foi realizada a antissepsia da pele com álcool iodado a 0,3% (Terapêutica - Farmácia de Manipulação) e sob condições assépticas, com auxílio de pinça e tesoura, foram feitas quatro incisões paralelas à linha mediana com aproximadamente 15mm de extensão, uma em cada quadrante da região dorsal dos animais.

A divulsão dos tecidos subcutâneos foi realizada por meio de uma espátula 7, introduzida unilateralmente em sentido oposto à linha mediana, formando uma loja cirúrgica com aproximadamente 20mm de profundidade, na qual os implantes foram colocados.

Terminadas as manobras de implantação, as bordas do tecido incisado foram coaptadas e suturadas com fio de sutura montado

(Seda preta 3-0 - 45cm - Jonhson & Jonhson) e porta-agulha. Os ratos foram colocados em gaiolas para cinco animais com ração e água *ad libitum*.

A avaliação clínica dos animais e regiões incisadas foi realizada 48 horas após a implantação, para verificar a ocorrência de algum óbito e para constatar se as bordas da ferida cirúrgica haviam-se mantido coaptadas.

#### 4.3 Seqüência dos procedimentos de remoção dos implantes.

Decorrido cada período de observação, os animais foram novamente anestesiados por inalação de éter sulfúrico, fez-se a tricotomia da região dorsal e antissepsia da pele com álcool iodado a 0,3%. As áreas correspondentes aos implantes foram removidas em bloco para análise, após o que os animais foram sacrificados.

Os blocos de tecido removidos, juntamente com os implantes, foram esticados em cartão absorvente branco (2 x 3cm) e fixados em formol a 10%, por 3 dias.

Após a macroscopia, os tubos foram removidos do tecido circundante para permitir cortes seriados no micrótomo. Os blocos de tecido foram incluídos em parafina, seccionados transversalmente em espécimes com 5  $\mu$ m de espessura e corados com hematoxilina e eosina. Foram selecionados, ao acaso, 8 cortes para cada tubo

implantado, totalizando 1920 espécimes para avaliação histomorfológica.

#### 4.4 Avaliação Histomorfológica

A avaliação histomorfológica foi realizada por meio de microscopia óptica (Fotomicroscópio óptico Docuval - Carl Zeiss Jena) e os resultados foram analisados segundo as recomendações da ISO<sup>21</sup> (1984).

As reações teciduais provocadas pelos adesivos junto à abertura tubular, área principal de análise, foram comparadas às reações provocadas ao redor dos tubos (região mediana), bem como às áreas da abertura tubular e região mediana dos grupos controle.

A análise dos dados para demonstrar a aceitação ou rejeição dos materiais foi baseada na ISO<sup>21</sup> (1984):

- a) Nenhuma a discreta reação em 2 e 12 semanas é aceitável. Nenhuma a leve reação em 2 semanas com aumento para reação moderada ou grave em 12 semanas é inaceitável.
- b) Reação moderada em 2 e 12 semanas é inaceitável. Reação moderada em 2 semanas com diminuição em 12 semanas é aceitável.
- c) Reação grave em qualquer período é inaceitável.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Período de observação (14 dias)**

#### **Grupo Controle**

O estudo histomorfológico ao nível de microscopia óptica mostrou que, nesse período de observação, o tecido que circundava a região mediana dos tubos formava uma grande cavidade delimitada por tecido conjuntivo bastante celular, com escassas células inflamatórias mononucleares e alguns vasos, apresentando disposição semelhante à de uma cápsula.

O tecido próximo à extremidade dos tubos era do tipo conjuntivo frouxo e estava infiltrado por células inflamatórias mononucleares, linfócitos, plasmócitos e macrófagos. Foram observados vários fibroblastos jovens e alguns vasos neoformados, com áreas que se definiam como um tecido de granulação (Figura 1).

#### **Grupo 2- Scotchbond Multi-Purpose (3M)**

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos desse grupo mostrou resultados semelhantes aos observados no Grupo Controle.

Na região próxima à extremidade dos tubos, observamos uma massa densa de tecido conjuntivo bastante celular, com

fibroblastos jovens, vasos neoformados e um moderado infiltrado de células inflamatórias mononucleares. Por vezes, pudemos observar áreas menos celulares e com certa hialinização, mostrando aspecto vítreo, homogêneo e eosinófilo.

### Grupo 3- Optibond Multi-Use (Kerr)

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos deste grupo mostrou resultados semelhantes aos observados no Grupo Controle.

Na região próxima à extremidade dos tubos, observamos a presença de tecido conjuntivo frouxo, com proliferação de fibroblastos jovens, vasos neoformados e um moderado infiltrado de células inflamatórias mononucleares (Figura 2). Em alguns espécimes, pudemos observar grande número de células gigantes multinucleadas “tipo corpo estranho”.

## 5.2 Período de observação (30 dias)

### Grupo Controle

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou a presença de cápsula fibrosa, circundando a cavidade correspondente ao diâmetro dos mesmos, constituída por fibras colágenas dispostas em arranjo paralelo com alguns fibroblastos.



Na região próxima à extremidade dos tubos, observamos uma massa densa de tecido conjuntivo frouxo, sem qualquer sinal de inflamação.

#### Grupo 2- Scotchbond Multi-Purpose (3M)

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou resultados semelhantes aos observados no Grupo Controle (Figura 3).

Na região próxima à extremidade dos tubos, pudemos observar uma massa densa de tecido conjuntivo frouxo, apresentando um grande número de vasos capilares e alguns fibroblastos. O infiltrado inflamatório apresentou-se com menor intensidade, sendo que a concentração de células mononucleares foi discreta em relação ao período de observação anterior (14 dias).

#### Grupo 3- Optibond Multi-Use (Kerr)

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou resultados semelhantes aos observados no Grupo Controle.

Na região próxima à extremidade dos tubos, observamos uma massa densa de tecido conjuntivo frouxo, com poucas células inflamatórias mononucleares e presença de células gigantes multinucleadas “tipo corpo estranho” ocasionais (Figura 4). Raros mastócitos e neutrófilos foram observados em alguns espécimes.

### 5.3 Período de observação (60 dias)

#### Grupo Controle

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou que os mesmos estavam envolvidos por uma cápsula fibrosa de tecido conjuntivo, de espessura irregular, apresentando-se mais nítida que no período de observação anterior (30 dias).

A região próxima à extremidade dos tubos mostrou características de normalidade; entretanto, ainda observamos grande vascularização na área, com presença de alguns feixes nervosos.

#### Grupo 2- Scotchbond Multi-Purpose (3M)

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou resultados semelhantes aos observados no Grupo Controle (Figura 5).

Na região próxima à extremidade dos tubos, observamos a presença de tecido conjuntivo frouxo, alguns vasos e, por vezes, feixes nervosos.

#### Grupo 3- Optibond Multi-Use (Kerr)

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou resultados semelhantes aos observados no Grupo Controle.

Na região próxima à extremidade dos tubos, observamos a presença de um tecido conjuntivo frouxo, com vasos e, por vezes, feixes nervosos (Figura 6).

#### 5.4 Período de observação (84 dias)

##### Grupo Controle

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou a presença de uma cápsula fibrosa de tecido conjuntivo, envolvendo os mesmos, poucas células fusiformes e grande quantidade de tecido adiposo.

Na região próxima à extremidade dos tubos, observamos predomínio de tecido conjuntivo frouxo, com ausência de inflamação. Em alguns espécimes, pudemos observar grande quantidade de tecido adiposo.

##### Grupo 2- Scotchbond Multi-Purpose (3M)

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou resultados semelhantes aos observados no Grupo Controle (Figura 7).

A região próxima à extremidade dos tubos apresentou presença de tecido conjuntivo frouxo, vasos e feixes nervosos. Em alguns espécimes, pudemos observar grande quantidade de tecido adiposo.

### Grupo 3- Optibond Multi-Use (Kerr)

O estudo histomorfológico da região mediana dos tubos mostrou resultados semelhantes aos observados no Grupo Controle.

Na região próxima à extremidade dos tubos, observamos a presença de tecido conjuntivo frouxo, vasos e feixes nervosos. Em alguns espécimes, pudemos observar grande quantidade de tecido adiposo (Figura 8).

Os resultados obtidos após avaliação histomorfológica, segundo os grupos, localização e períodos de observação, foram resumidos e classificados de acordo com as recomendações da ISO<sup>21</sup> (1984) na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação das reações teciduais obtidas de acordo com as recomendações da ISO<sup>21</sup> (1984)

GRUPOS	LOCALIZAÇÃO	PERÍODOS DE OBSERVAÇÃO (em dias)			
		14	30	60	84
Grupo	rm	RD	NR	NR	NR
Controle	pe	RM	NR	NR	NR
Grupo	rm	RD	NR	NR	NR
2	pe	RM	RD	NR	NR
Grupo	rm	RD	NR	NR	NR
3	pe	RM	RM	NR	NR

rm = região mediana

pe = próximo à extremidade

NR = nenhuma reação

RD = reação discreta

RM = reação moderada

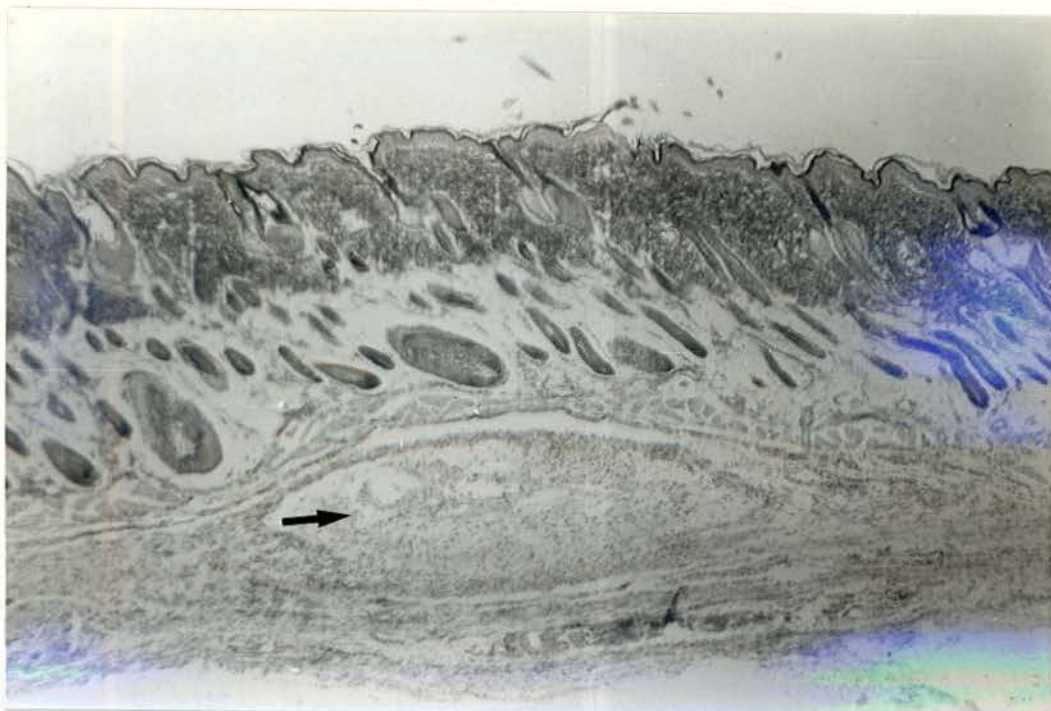


FIGURA 1- Grupo Controle, 14 dias. Microfotografia da pele e região subcutânea de rato, mostrando tecido conjuntivo frouxo infiltrado por células inflamatórias mononucleares, na região próxima à extremidade do tubo (seta). H.E. 32x.

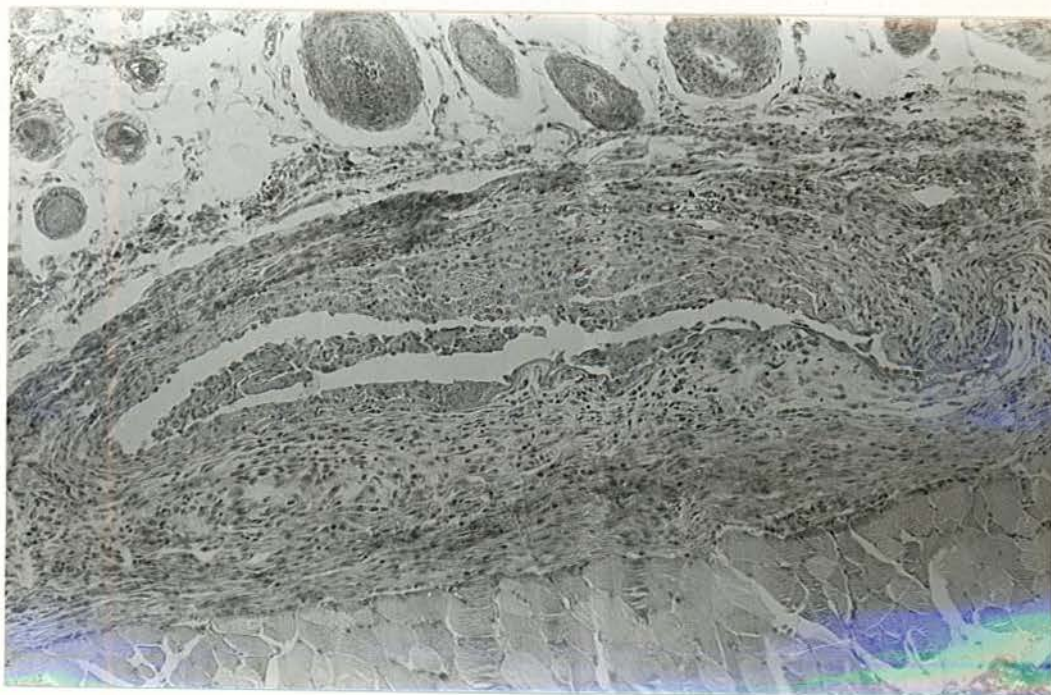


FIGURA 2- Grupo 3- Optibond Multi-Use (Kerr), 14 dias. Microfotografia mostrando tecido conjuntivo frouxo com moderado infiltrado de células inflamatórias mononucleares na região próxima à extremidade do tubo. H.E. 80x.



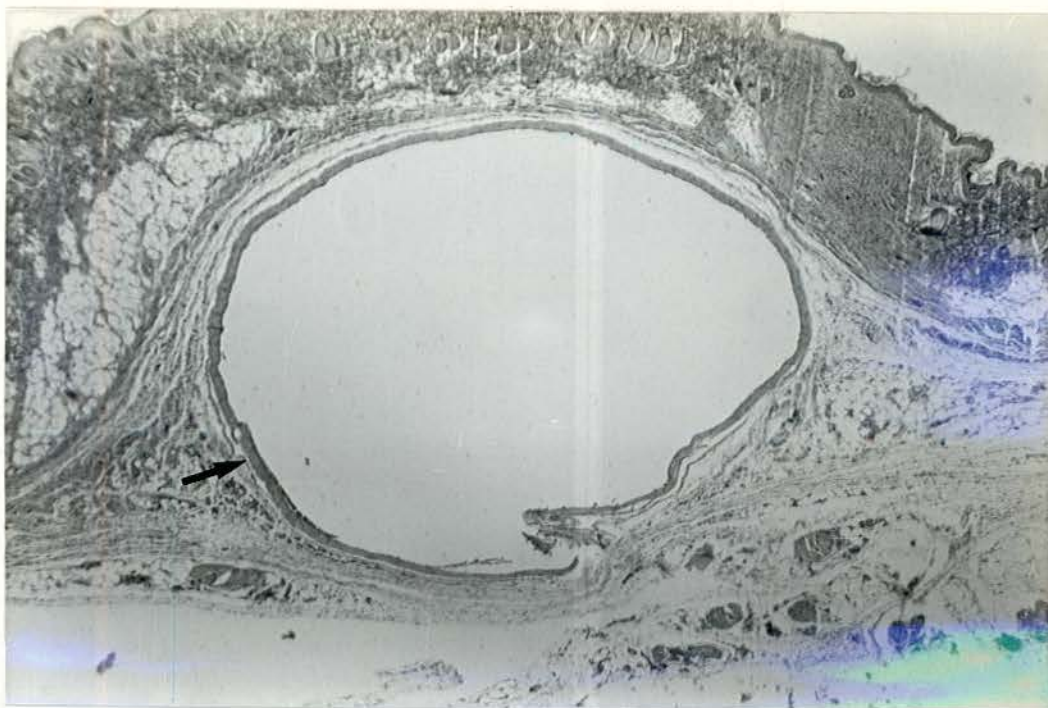


FIGURA 3- Grupo 2- Scotchbond Multi-Purpose (3M), 30 dias. Microfotografia da pele e região subcutânea de rato, mostrando a presença de cápsula fibrosa (seta) envolvendo a região mediana do tubo. H.E. 32x.

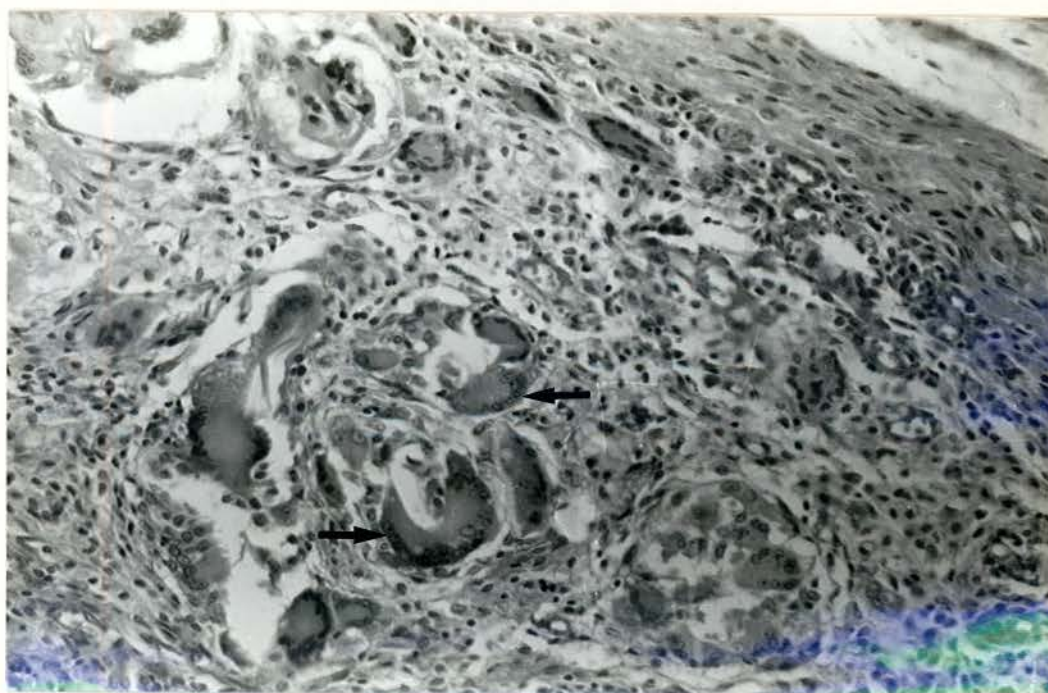


FIGURA 4- Grupo 3- Optibond Multi-Use (Kerr), 30 dias. Microfotografia de tecido conjuntivo infiltrado por células inflamatórias mononucleares e células gigantes multinucleadas (setas) na região próxima à extremidade do tubo. H.E. 250x.



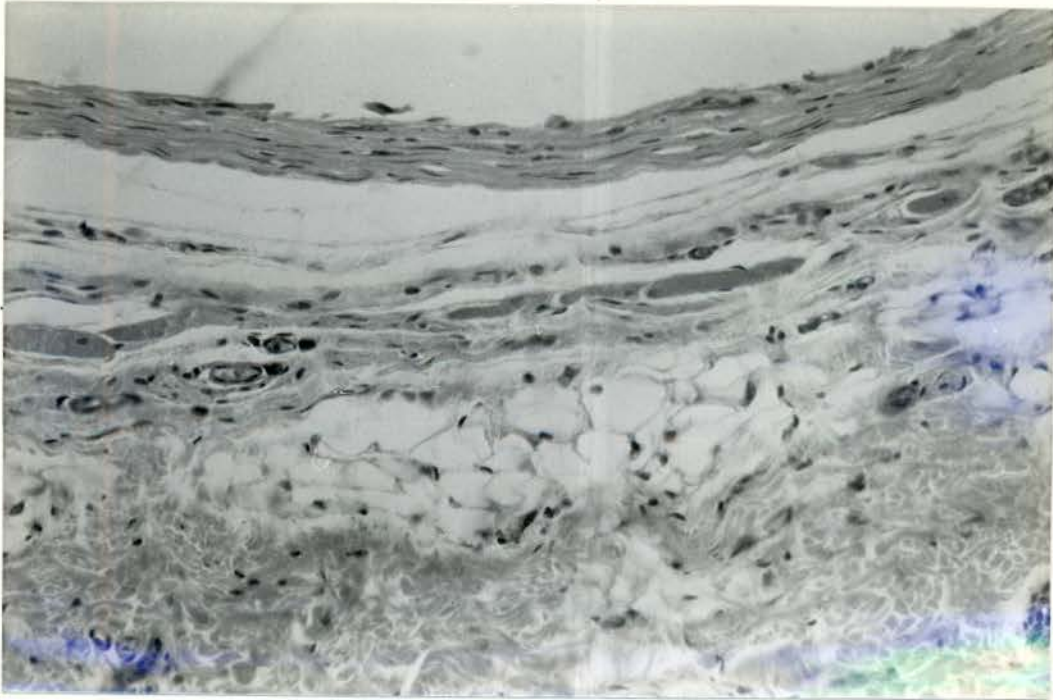


FIGURA 5- Grupo 2- Scotchbond Multi-Purpose (3M), 60 dias. Microfotografia mostrando parte da cápsula fibrosa, envolvendo a região mediana do tubo. H.E. 200x.

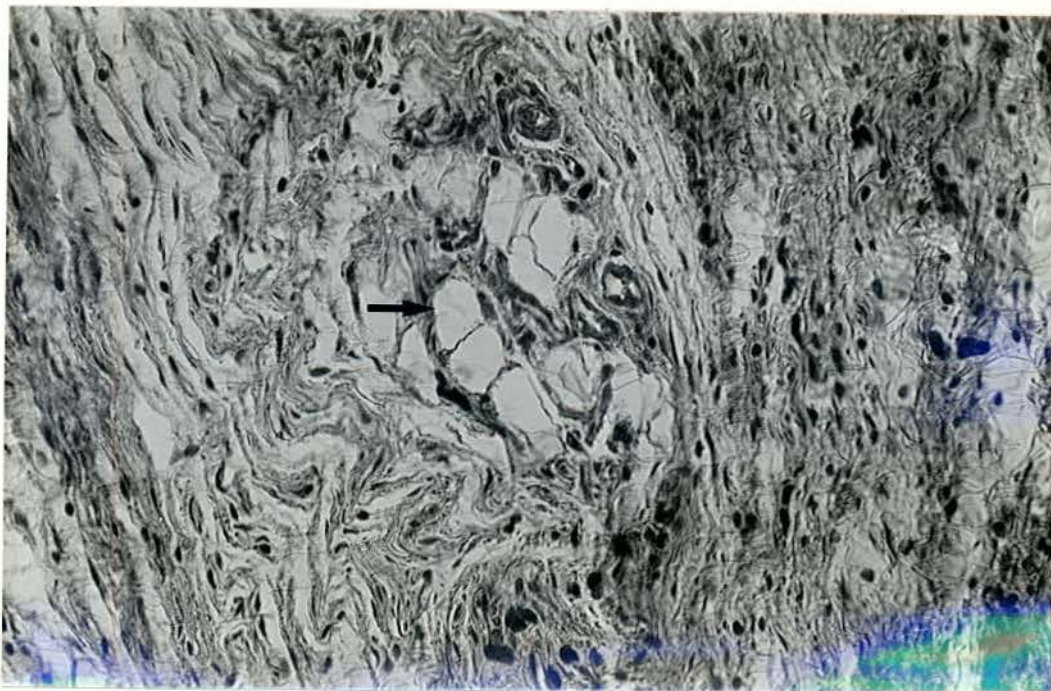


FIGURA 6- Grupo 3- Optibond Multi-Use (Kerr), 60 dias. Microfotografia de tecido conjuntivo subcutâneo com características de normalidade na região próxima à extremidade do tubo. Presença de algumas células adiposas (seta). H.E. 200x.



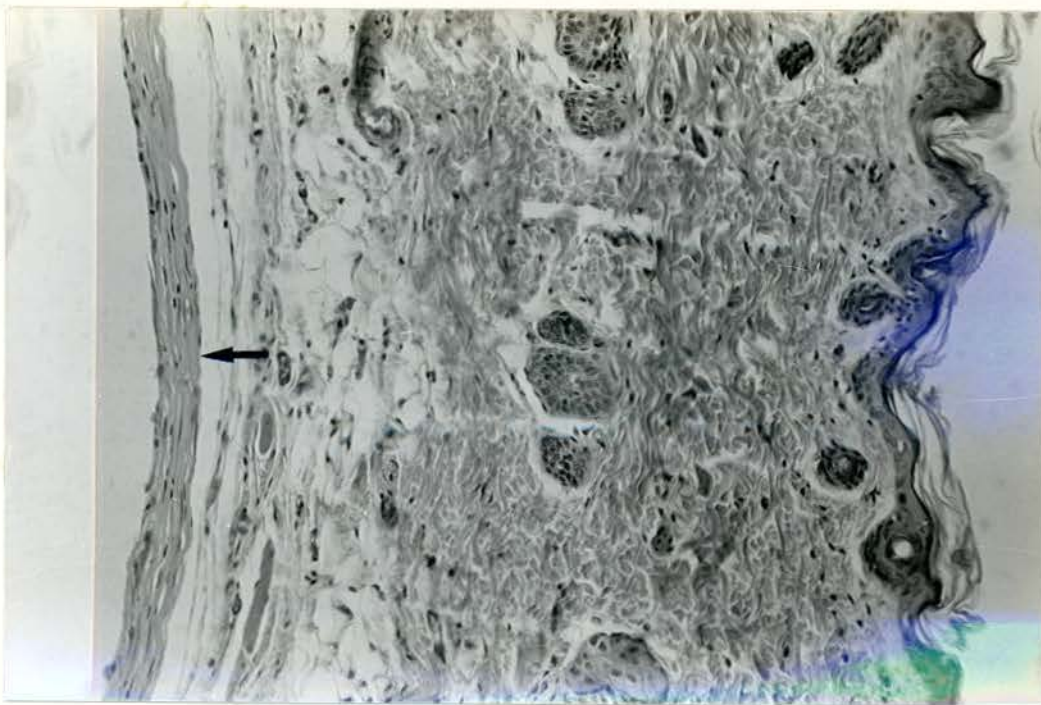


FIGURA 7- Grupo 2- Scotchbond Multi-Purpose (3M), 90 dias. Microfotografia da pele e região subcutânea de rato com parte da cápsula fibrosa (seta), envolvendo a região mediana do tubo. H.E. 160x.



FIGURA 8- Grupo 3- Optibond Multi-Use (Kerr), 90 dias. Microfotografia de tecido conjuntivo e tecido adiposo com características de normalidade na região próxima à extremidade do tubo. H.E. 160x.

## 6 DISCUSSÃO

Na literatura consultada sobre a avaliação biológica dos materiais dentários, observamos que a preocupação com a padronização dos testes utilizados nesse tipo de avaliação é relativamente recente. A ADA<sup>2</sup> (1972) preconizou uma padronização de práticas para esse tipo de avaliação, mas até recentemente, de acordo com a ISO<sup>22</sup> (1992), esse objetivo não havia sido alcançado.

Segundo a ISO<sup>22</sup> (1992), os testes de implantação foram recomendados para avaliar os efeitos patológicos locais sobre tecidos vivos, a nível macroscópico e microscópico, de materiais experimentais ou produtos finais, implantados cirurgicamente em tecidos apropriados de acordo com a aplicação pretendida dos mesmos. De acordo com a FDI<sup>17</sup> (1980), os testes recomendados têm o objetivo de avaliar a segurança dos materiais desenvolvidos para uso em humanos. Segundo a ISO<sup>21</sup> (1984), a análise dos resultados obtidos no teste de implantação subcutânea baseia-se na intensidade das reações teciduais observadas (nenhuma, discreta, moderada e grave), classificando os materiais submetidos ao teste como aceitáveis ou inaceitáveis.

Cada um dos 17 tipos de testes recomendados pela ISO<sup>21</sup> (1984) e classificados em três níveis (testes iniciais, secundários e testes de uso) tem suas indicações e devem ser aplicados de acordo com a utilização pretendida do material. Segundo a ISO<sup>21</sup> (1984), o teste de implantação subcutânea deve ser empregado para avaliar a toxicidade *in vivo* dos materiais testados, pretendidos para o contato

prolongado com os tecidos subcutâneos. Considerando essa recomendação, acreditamos que a avaliação biológica dos adesivos dentinários, por meio desse teste, seja o início de uma vasta linha de pesquisa baseada na sugestão de Bruce et al.<sup>8</sup> (1993), segundo os quais os adesivos dentinários poderiam ser utilizados em cirurgias periapicais.

Avaliando os resultados obtidos na presente pesquisa, verificamos ausência de inflamação no tecido conjuntivo circunjacente à região mediana dos tubos de polietileno, nos períodos de observação de 30, 60 e 84 dias. Esses resultados se assemelham aos encontrados por Torneck<sup>41</sup> (1966); Torneck<sup>42</sup> (1967) e Phillips<sup>38</sup> (1967), indicando a aceitabilidade desse material para testes em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos.

Em todos os períodos de observação, verificamos a presença de cápsula fibrosa envolvendo os tubos de polietileno. Segundo Torneck<sup>41</sup> (1966), a formação dessa cápsula fibrosa ocorre como resultado do deslocamento do tecido conjuntivo, e proliferação de elementos desse tecido ao redor dos tubos implantados. De acordo com Phillips<sup>38</sup> (1967), essa encapsulação fibrosa é uma resposta característica de todo tecido conjuntivo fibroso às substâncias não irritantes.

As reações teciduais discretas, verificadas no tecido conjuntivo circunjacente à região mediana dos tubos de polietileno (Grupo Controle, Grupo 2 e Grupo 3), no período de observação 14 dias, podem ser explicadas como conseqüências do processo de reparação dessa área, após o trauma causado pelos procedimentos

cirúrgicos de implantação. Watts & Paterson<sup>47</sup> (1992) recomendaram que a observação da resposta tecidual aos implantes seja realizada após a reparação total da ferida cirúrgica, o que ocorrerá, de acordo com os autores, duas ou três semanas após o implante. Segundo Autian<sup>5</sup> (1981), o tempo de avaliação é um dos fatores que podem influenciar a resposta tecidual aos materiais implantados. Concordamos com as observações de Mjör et al.<sup>34</sup> (1977), ao afirmarem que a avaliação histomorfológica das reações teciduais realizada em períodos de observação muito curtos, refletirá apenas a reação inflamatória decorrente do procedimento de implantação, tendo pouco valor no processo de avaliação dos materiais implantados.

A reação tecidual moderada, verificada no tecido conjuntivo próximo à extremidade dos tubos no Grupo Controle (14 dias), pode ser relacionada ao processo de reparação da área após o trauma produzido pelos procedimentos cirúrgicos de implantação. Entretanto, Autian<sup>5</sup> (1981) destacou que além da técnica cirúrgica, tempo de avaliação, local de implantação e certos tipos de substâncias químicas esterilizantes, a forma física do implante também poderia influenciar a resposta tecidual nos métodos de implantação. Segundo as observações desse autor, os implantes com formatos mais irregulares poderiam produzir respostas teciduais de maior intensidade. Em concordância com esse autor, acreditamos que a forma da extremidade aberta dos tubos, quando comparada às laterais lisas do mesmo, tenha influenciado a resposta tecidual observada, sendo mais irritante para o tecido conjuntivo.

Autian<sup>5</sup> (1981) explicou que técnicas cirúrgicas inadequadas no procedimento de implantação causam injúria física ao tecido. Certos tipos de substâncias químicas esterilizantes podem ser adsorvidas pelos implantes e, quando esses são implantados, seus componentes podem ser liberados, agravando a resposta tecidual. O local de implantação também pode influenciar a resposta tecidual, dependendo da quantidade de movimentação à qual o implante é submetido.

Observamos ausência de inflamação no tecido conjuntivo próximo à extremidade dos tubos de polietileno nos Grupos Controles em 30, 60 e 84 dias. Esses resultados estão em concordância com Torneck<sup>41</sup> (1966), Torneck<sup>42</sup> (1967) e Phillips<sup>38</sup> (1967), comprovando que os tubos de polietileno não provocam irritação tecidual quando implantados no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos.

Não foi observada invaginação de tecido conjuntivo no interior dos tubos de polietileno nos Grupos Controle, em qualquer período de observação. Esse dado foi concordante com os resultados obtidos por Torneck<sup>41</sup> (1966), segundo o qual, o fechamento dos tubos em uma das extremidades impedia a invaginação de tecido para o interior dos mesmos.

A espessura da cápsula fibrosa observada circunjacente aos tubos de polietileno foi semelhante nos vários períodos de observação (14, 30, 60 e 84 dias). A espessura dessa cápsula pode ser influenciada, segundo Torneck<sup>41</sup> (1966), pelo local de implantação do tubo e quantidade de tecido deslocado. Natiella & Fischman<sup>35</sup> (1975) constataram que a formação de cápsula fibrosa circunjacente aos

implantes é considerada como resposta desejável por alguns autores e evidência de falha por outros. Contudo, independentemente da espessura da cápsula fibrosa circunjacente aos implantes, não encontramos áreas de necrose ou intensa reação inflamatória associadas à mesma. Baseados nessa observação, consideramos a presença da cápsula fibrosa como uma resposta desejável no processo de reparação do tecido conjuntivo.

A reação tecidual moderada, verificada no tecido conjuntivo próximo à extremidade dos tubos no Grupo 2 - Scotchbond Multi-Purpose (3M), em 14 dias, pode ser relacionada ao processo de reparação da área após o trauma produzido pela cirurgia de implantação, bem como a presença do material em contato com o tecido conjuntivo. O Scotchbond Multi-Purpose adesivo (3M) é uma resina fotopolimerizável, constituída por BIS-GMA (bisfenol glicidil metacrilato) e HEMA (hidroxietilmetacrilato). Segundo 3M Produtos Dentários<sup>43</sup> (1992), foram recomendadas precauções na utilização desse adesivo, pois o HEMA é um conhecido alergênico, podendo provocar respostas alérgicas numa pequena porcentagem da população. Hanks et al.<sup>19</sup> (1992) verificaram que, dependendo da concentração empregada, o HEMA mostrou-se citotóxico sobre cultura de células de fibroblastos.

A presença do HEMA na composição do adesivo Scotchbond Multi-Purpose (3M) poderia constituir-se num dos fatores responsáveis pela reação tecidual moderada, verificada no período de observação 14 dias, bem como a reação tecidual discreta verificada em 30 dias.

O adesivo Scotchbond Multi-Purpose (3M), de acordo com 3M Produtos Dentários<sup>43</sup> (1992), foi avaliado biologicamente por meio de testes *in vitro* e testes de uso propostos pela ISO<sup>21</sup> (1984). Os resultados indicaram que o produto foi similar a outros sistemas de união a resinas, não apresentando efeitos biológicos negativos nesses testes. Entretanto, Bouillaguet et al.<sup>6</sup> (1993) observaram resultados discordantes, verificando que o Scotchbond Multi-Purpose (3M) mostrou-se citotóxico para cultura de células *in vitro* preparada de tecido pulpar humano. Essas divergências entre os resultados obtidos confirmam as afirmações da ADA<sup>3</sup> (1987), segundo a qual, o número de pesquisas sobre a avaliação biológica dos adesivos dentinários é restrito, apresentando resultados e conclusões variados e não incluindo todos os sistemas adesivos dentinários.

Os resultados obtidos no presente trabalho, por meio do teste de implantação subcutânea em ratos, mostraram moderada reação no tecido conjuntivo, em 14 dias, e ausência de inflamação nos períodos de 60 e 84 dias. Baseados nos critérios de avaliação tecidual recomendados pela ISO<sup>21</sup> (1984), esses resultados nos permitem afirmar que esse adesivo é biologicamente aceitável quando em contato com tecido conjuntivo subcutâneo de ratos.

A reação tecidual moderada, verificada no tecido conjuntivo próximo à extremidade dos tubos no Grupo 3 - Optibond Multi-Use (Kerr), em 14 dias, pode ser relacionada com o processo de reparação da área, após o trauma produzido pela cirurgia de implantação, bem como a presença do material em contato com o tecido conjuntivo. A presença de células gigantes multinucleadas “tipo



corpo estranho” em alguns espécimes desse grupo indicou uma variação na resposta do tecido conjuntivo a esse material, provavelmente decorrente da influência de algum de seus componentes. Segundo Chain et al.<sup>12</sup> (1994), o adesivo Optibond Multi-Use -light cure- (Kerr) é uma resina fotopolimerizável que mistura componentes hidrofílicos e hidrofóbicos, tais como: TEGDM (trietilenoglicol dimetacrilato), UDM (uretano dimetacrilato) e GPDM (glicerol fosfato dimetacrilato). Entretanto, essa suposição só poderia ser confirmada após verificação da reação tecidual a esses componentes, quando implantados isoladamente no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos.

A reação tecidual moderada, verificada no Grupo 3 - Optibond Multi-Use (Kerr) em 30 dias, mostrou menor intensidade quando comparada à reação observada no período anterior (14 dias). Verificamos a presença de poucas células inflamatórias mononucleares e ainda algumas células gigantes “tipo corpo estranho”. Os resultados obtidos nos períodos de observação posteriores (60 e 84 dias) foram semelhantes nos três grupos avaliados (Grupo Controle, Grupo 2 e Grupo 3), mostrando ausência de reação inflamatória no tecido conjuntivo próximo à extremidade dos tubos. Esses resultados indicaram que a magnitude da reação tecidual provocada pelo adesivo Optibond Multi-Use (Kerr) decresceu com o tempo. Baseados nos critérios de avaliação tecidual recomendados pela ISO<sup>21</sup> (1984), os resultados obtidos nos permitem afirmar que esse adesivo é biologicamente aceitável quando em contato com tecido conjuntivo subcutâneo de ratos.



A utilização de testes de cultura de células *in vitro* poderia auxiliar no conhecimento do potencial citotóxico dos componentes de cada um dos adesivos dentinários, segundo Langeland<sup>28</sup> (1978). Contudo, sabemos, por meio dos trabalhos de Mjör et al.<sup>34</sup> (1977), Langeland<sup>28</sup> (1978), Kawahara<sup>26</sup> (1982), Wennberg et al.<sup>48</sup> (1983) e Watts & Paterson<sup>47</sup> (1992), que existe uma fraca correlação entre os resultados obtidos nos diferentes tipos de testes. Estamos de acordo com Mjör<sup>33</sup> (1990), ao afirmar que, apesar das variações nas metodologias dos testes e das dúvidas com relação à qual teste ou testes seriam os mais apropriados para a observação dos materiais restauradores, faz-se necessária a realização de vários testes para que se possa estabelecer um perfil de toxicidade do material restaurador.

Quanto às vantagens do teste de implantação subcutânea em ratos, concordamos com Mitchell<sup>32</sup> (1959); Autian<sup>5</sup> (1981); Olsson<sup>36</sup> (1981); Browne<sup>7</sup> (1988); Watts & Paterson<sup>47</sup> (1992) que citam: rapidez, simplicidade técnica, custo razoável e possibilidade de observação da reação inflamatória.

Quanto às desvantagens do teste de implantação subcutânea em ratos, concordamos com Olsson<sup>36</sup> (1981); Browne<sup>7</sup> (1988); Tyas<sup>44</sup> (1991) que citam: grande número de variáveis que podem influenciar a resposta tecidual e dificuldade na avaliação quantitativa dos resultados obtidos.

Acreditamos que a dificuldade na avaliação quantitativa dos resultados seja a maior desvantagem do teste de implantação subcutânea. Sem dúvida, essa desvantagem favorece críticas a esse tipo de teste. Entretanto, da mesma forma que Olsson<sup>36</sup> (1981),

consideramos o teste de implantação subcutânea como um método prático para avaliação qualitativa das reações teciduais.

O teste de implantação subcutânea possui vantagens, desvantagens e limitações, como todos os outros testes empregados na avaliação biológica dos materiais dentários. Concordamos com Hensten-Pettersen<sup>20</sup> (1988) em sua afirmação de que, apesar das diferenças técnicas e metodológicas entre os testes, cada um deles tem sua importância, exemplificando, por meio do óxido de zinco e eugenol, que um material pode ser biocompatível em determinada situação e não em outra.

## **7 CONCLUSÕES**

Nas condições em que a pesquisa transcorreu e de acordo com os critérios de avaliação tecidual recomendados pela ISO<sup>21</sup> (1984), os resultados obtidos nos permitiram concluir que:

- a) os dois adesivos dentinários são biologicamente aceitáveis quando colocados em contato com o tecido conjuntivo subcutâneo de ratos;
- b) houve reação moderada do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos aos dois adesivos dentinários no período de observação de 14 dias, a qual persistiu com o adesivo Optibond Multi-Use -light cure- (Kerr) aos 30 dias;
- c) as reações teciduais provocadas pelos dois adesivos nos períodos de observação posteriores (60 e 84 dias) foram semelhantes e biologicamente aceitáveis.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

- 1 AL-DAWOOD, A., WENNBERG, A. Biocompatibility of dentin bonding agents. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.9, p.1-7, 1993.
- 2 AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. COUNCIL ON DENTAL MATERIALS AND DEVICES. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.84, p.382-7, 1972.
- 3 AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. COUNCIL ON DENTAL MATERIALS, INSTRUMENTS, AND EQUIPMENT. Dentin bonding systems: an update. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.114, p.91-4, 1987.
- 4 AUTIAN, J. General toxicity and screening tests for dental materials. *Int. Dent. J.*, v.24, p.235-50, 1974.
- 5 AUTIAN, J. Implantation methods for biological testing of dental materials. *Int. Endod. J.*, v.14, p.107-14, 1981.

---

\* Baseado em:  
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. *Referências bibliográficas*: NBR 6023. Rio de Janeiro, 1989. 19p.

- 6 BOUILLAGUET, S., CIUCCHI, B., HOLZ, J. The evaluation of the cytotoxicity of 2 dental adhesives using human pulp cells in culture. *Schweiz. Monatsschr. Zahnmed.*, v.103, p.1085-91, 1993.
- 7 BROWNE, R.M. The *in vitro* assessment of the cytotoxicity of dental materials - does it have a role ? *Int. Endod. J.*, v.21, p.50-8, 1988.
- 8 BRUCE, G.R., McDONALD, N.J., SYDISKIS, R.J. Cytotoxicity of retrofill materials. *J. Endod.*, v.19, p.288-92, 1993.
- 9 BUONOCORE, M.G. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J. Dent. Res.*, v.34, p.849-53, 1955.
- 10 BURGER, R.C., GARONE NETTO, N. Histórico dos adesivos dentinários. *Rev. Odontopediatria*, v.1, p.245-55, 1992.
- 11 CHAIN, M.C., LEINFELDER, K.F. O estágio atual dos adesivos dentinários. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, v.47, p.1173-80, 1993.
- 12 CHAIN, M.C., et al. Shear bond strenghts and scanning electron microscopic studies of Optibond Multi-filled adhesive system. *J. Dent. Res.*, v.73, sp. iss., p.199, 1994. (Abstract 781).

- 13 COX, C.F. Effects of adhesive resins and various dental cements on the pulp. *Oper. Dent.*, suppl.5, p.165-76, 1992.
- 14 ELBAUM, R., REMUSAT, M., BROUILLET, J.L.  
Biocompatibility of an enamel-dentin adhesive. *Quintessence Int.*, v.23, p.773-81, 1992.
- 15 ERICKSON, R.L. Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper. Dent.*, suppl.5, p.81-94, 1992.
- 16 FANTINATO, V., et al. *Manual de esterilização e desinfecção em Odontologia*. São Paulo: Editora Santos, 1994. 34p.
- 17 FEDERATION DENTAIRE INTERNATIONALE. COMMISSION ON DENTAL MATERIALS, INSTRUMENTS, EQUIPMENT AND THERAPEUTICS. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *Int. Dent. J.*, v.30, p.140-88, 1980.
- 18 GRIFFITHS, D., LANGELAND, K. The need for biological evaluation of dental materials. *Int. Endod. J.*, v.14, p.102-6, 1981.
- 19 HANKS, C.T., et al. Delineation of cytotoxic concentrations of two dentin bonding agents *in vitro*. *J. Endod.*, v.18, p.589-96, 1992.

- 20 HENSTEN-PETTERSEN, A. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. *Int. Endod. J.*, v.21, p.89-99, 1988.
- 21 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Biological evaluation of dental materials. Genève, 1984. 54p. (Technical Report 7405).
- 22 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Biological evaluation of medical devices. Part I. Guidance on selection of tests. Technical Corrigendum 1. Genève, 1992. 11p. (ISO 10993, n.1).
- 23 JOHNSON, G.H., POWELL, L.V., GORDON, G.E. Dentin bonding systems: a review of current products and techniques. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.122, p.34-41, 1991.
- 24 JOHNSON, H.J., et al. Biocompatibility test procedures for materials evaluation *in vitro*. 1. Comparative test system sensitivity. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.17, p.571-86, 1983.
- 25 KALLUS, T., et al. Ranking of histologic tissue responses in the biologic evaluation of dental materials. *Scand. J. Dent. Res.*, v.96, p.265-74, 1988.
- 26 KAWAHARA, H. Biological evaluation of dental materials, *in vitro* and *in vivo*. *J. Dent. Assoc. S. Afr.*, v.37, p.823-31, 1982.

- 27 KERR DENTAL MATERIALS CENTER, Santa Ana, CA.  
Revolutionary structural bonding technology Optibond Multi-  
Use bonding agent. Romulus, ML: Kerr Manufacturing  
Company, 1992. 10p.
- 28 LANGELAND, K. Correlation of screening tests to usage tests. *J. Endod.*, v.4, p.300-3, 1978.
- 29 LEINFELDER, K.F. Current developments in dentin bonding systems: major progress found in today's products. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.124, p.40-2, 1993.
- 30 LEMONS, J., NATIELLA, J. Biomaterials, biocompatibility and peri-implant considerations. *Dent. Clin. North. Am.*, v.30, p.3-23, 1986.
- 31 MERYON, S.D., BROOK, A.M. *In vitro* citotoxicity of three dentine bonding agents. *J. Dent.*, v.17, p.279-83, 1989.
- 32 MITCHELL, D.F. The irritational qualities of dental materials. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.59, p.954-66, 1959.
- 33 MJÖR, I.A. Current views on biological testing of restorative materials. *J. Oral Rehabil.*, v.17, p.503-7, 1990.



- 34 MJÖR, I.A., HENSTEN-PETTERSEN, A., SKOGEDAL, O.  
Biological evaluation of filling materials. A comparison of results using cell culture techniques, implantation tests and pulp studies. *Int. Dent. J.*, v.27, p.124-29, 1977.
- 35 NATIELLA, J.R., FISCHMAN, S.L. Resins as dental implants. *Dent. Clin. North. Am.*, v.19, p.419-24, 1975.
- 36 OLSSON, B., SLIWKOWSKI, A., LANGELAND, K.  
Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J. Endod.*, v.7, p.355-69, 1981.
- 37 PASHLEY, D.H., et al. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int.*, v.24, p.618-31, 1993.
- 38 PHILLIPS, J.M. Rat connective tissue response to hollow polyethylene tube implants. *J. Can. Dent. Assoc.*, v.33, p.59-64, 1967.
- 39 PHILLIPS, R.W. *Materiais dentários de Skinner*. Trad. D.F. Vieira. 8.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1986. p.1-6.
- 40 STANLEY, H.R. Biological evaluation of dental materials. *Int. Dent. J.*, v.42, p.37-46, 1992.

- 41 TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Part 1. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.21, p.379-87, 1966.
- 42 TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Part 2. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.24, p.674-83, 1967.
- 43 3M PRODUTOS DENTÁRIOS. Scotchbond Sistema Adesivo Dental Multi-Usado: perfil técnico do produto. Campinas: 3M, 1992. 20p.
- 44 TYAS, M.J. Dental materials science: the maintenance of standards. *J. Oral Rehabil.*, v.18, p.105-10, 1991.
- 45 TYAS, M.J., BROWNE, R.M. Biological testing of dental restorative materials. *J. Oral Rehabil.*, v.4, p.275-90, 1977.
- 46 VAN LEEWWEN, M.J., et al. A histological investigation of two dentin bonding agents. *J. Dent. Res.*, v.61, sp. iss., p.268, 1982. (Abstract 804).
- 47 WATTS, A., PATERSON, R.C. Initial biological testing of root canal sealing materials: a critical review. *J. Dent.*, v.20, p.259-65, 1992.

- 48 WENNBERG, A., MJÖR, I.A., HENSTEN-PETTERSEN, A.  
Biological evaluation of dental restorative materials: a  
comparison of different test methods. *J. Biomed. Mater. Res.*,  
v.17, p.23-36, 1983.
- 49 WHITE, K.C., et al. Histologic pulpal response of acid etching vital  
dentin. *J. Dent. Res.*, v.71, sp. iss., p.188, 1992. (Abstract  
658).
- 50 WILSON, N.H.F. The evaluation of materials: relationships  
between laboratory investigations and clinical studies. *Oper.*  
*Dent.*, v.15, p.149-55, 1990.

GOMES, A.P.M. *Avaliação da biocompatibilidade de dois adesivos dentinários pelo estudo das reações teciduais em conjuntivo de ratos.* São José dos Campos, 1994. 86p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

## RESUMO

A biocompatibilidade de dois adesivos dentinários (Scotchbond Multi-Purpose - 3M e Optibond Multi-Use - Kerr) foi avaliada por meio de implantes em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Os implantes foram realizados, utilizando-se tubos de polietileno preenchidos com os respectivos adesivos e inseridos em lojas cirúrgicas preparadas no dorso dos animais, os quais foram sacrificados nos períodos de observação de 14, 30, 60 e 84 dias. Os tecidos circunjacentes aos implantes foram removidos, incluídos em parafina e corados com hematoxilina e eosina para análise em microscopia óptica. Os resultados mostraram moderado a discreto infiltrado inflamatório nos períodos iniciais de observação (14 e 30 dias) e reparação da área nos períodos posteriores (60 e 84 dias), com formação de cápsula fibrosa envolvendo todos os implantes. Os resultados obtidos nos permitiram concluir que: a) os dois adesivos dentinários são biologicamente aceitáveis quando colocados em contato com o tecido conjuntivo subcutâneo de ratos; b) houve reação moderada do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos aos dois adesivos dentinários no período de observação de 14 dias, a qual persistiu com o adesivo Optibond Multi-Use -light cure- (Kerr) aos 30 dias; c) as reações teciduais provocadas

pelos dois adesivos nos períodos de observação de 60 e 84 dias foram semelhantes e biologicamente aceitáveis.

**Palavras chave:** Adesivos dentinários; materiais biocompatíveis; testes de materiais.

GOMES, A.P.M. *Evaluation of biocompatibility of two dentin adhesives. Rats connective tissue reaction study.* São José dos Campos. 86p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

#### ABSTRACT

The biocompatibility of two dentin adhesives (Scotchbond Multi-Purpose - 3M and Optibond Multi-Use - Kerr) was evaluated in rats subcutaneous connective tissue implants. Polyethylene tubes filled with the adhesives were surgically implanted into the dorsal subcutaneous tissues of rats. The tubes were left implanted for periods of 14, 30, 60 and 84 days, following which the animals were killed and the implants, together with the surrounding tissue, were excised. The specimens were then fixed in 10 per cent formalin, sectioned serially and stained with hematoxylin and eosin and then, examined by light microscopy. After 14 and 30 days the tubes were surrounded by a mild to moderate inflammatory infiltration. After 60 and 84 days microscopic examination revealed the formation of a connective tissue capsule around each tube. The microscopic examination of the biopsy specimens allowed to conclude that: a) both dentin adhesives are considered biologically acceptable when placed in contact with rats subcutaneous connective tissue; b) in the observation period of 30 days there were moderate tissue reaction to the Optibond Multi-Use -light cure- (Kerr); c) after 60 and 84 days the use of both dentine adhesives did not interfere in the healing of the surrounding connective tissue.

**Key words:** Dentin bonding agents; materials testing; biocompatible materials.

Autorizo a reprodução deste trabalho.

São José dos Campos, 16 de dezembro de 1994.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ana Paula Martins Gomes', written in a cursive style.

ANA PAULA MARTINS GOMES