

AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DO ÁCIDO CÍTRICO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES – TESTE EDEMOGÊNICO

Roberto Trujillo Júnior¹
Fabiane Bortoluci da Silva²
Juliano Milanezi de Almeida³
Simone Maria Galvão de Sousa⁴

¹ Aluno de graduação da
Faculdade de Odontologia da
Universidade do Sagrado
Coração - USC,
Bauru, São Paulo

² Bióloga, Especialista em
Ciências - Universidade do
Sagrado Coração - USC,
Bauru, São Paulo

³ Aluno de Pós-graduação em
Periodontia da Faculdade de
Odontologia da Universidade
Estadual Júlio de Mesquita
Filho - UNESP,
Araçatuba, São Paulo

⁴ Professora Doutora da
Disciplina de Patologia Bucal
da Faculdade de Odontologia
da Universidade do Sagrado
Coração - USC,
Bauru, São Paulo

JÚNIOR, Roberto Trujillo et al. Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações - teste edemogênico. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 2, p. 31-40, 2003.

RESUMO

O ácido cítrico é um ácido orgânico biológico que vem sendo utilizado na Odontologia como coadjuvante na terapia endodôntica, periodontal e restauradora. A utilização desta substância na Endodontia visa basicamente a desmineralização das paredes do conduto radicular durante o preparo biomecânico, com o intuito de remover a “smear layer”, permitindo uma melhor adesão dos materiais obturadores a dentina. Sabendo da importância do dano químico que uma substância irrigadora pode causar, quando inadvertidamente alcança os tecidos periodontais, o objetivo deste trabalho é avaliar “in vivo” o potencial irritativo do ácido cítrico em diferentes concentrações, nos tempos de, 1/2, 1, 3 e 6 horas, pela técnica de exsudação de corantes vitais. Inicialmente (1/2 hora) todas as concentrações foram irritantes ao tecido conjuntivo e no decorrer do tempo, elas se diferenciaram entre si. Com relação à concentração, as soluções de ácido cítrico, a 1% e 10%, foram menos irritantes que as demais. Houve uma semelhança de comportamento entre as soluções a 5% e 25%, nos períodos de tempo de 1,3 e 6h, sendo as mais irritantes. A solução menos irritante foi o ácido cítrico a 1%. Os autores recomendam cautela no uso clínico deste ácido, optando sempre que possível por concentrações mais baixas.

PALAVRAS-CHAVE: *Ácido cítrico; biocompatibilidade; inflamação; terapia endodôntica.*

Recebido em: 12/05/2003
Aceito em: 15/01/2004

INTRODUÇÃO

O sucesso da terapia se deve, em grande parte, pela abordagem físico-químico-mecânica do sistema de canais radiculares. Esta associação compõe o complexo protocolo da terapêutica endodôntica que visa à limpeza, desinfecção e preparo do sistema de condutos, permitindo a ação dos fármacos utilizados como curativo de demora bem como o adequado selamento do material obturador.

Na irrigação e aspiração, será de importância a capacidade de limpeza e desinfecção da substância ou solução irrigadora, agir não somente sobre os compostos orgânicos como também sobre os inorgânicos. Desde que Mc Comb e Smith (1975) descreveram a presença de uma camada aderida às paredes dos canais radiculares, ela teve sua inclusão como tempo operatório da abordagem terapêutica endodôntica. Dentre as substâncias irrigadoras utilizadas para a remoção da “smear layer”, estão os agentes quelantes e os ácidos orgânicos (GAVINI et al., 1995; LOEL, 1975; MC COMB; SMITH, 1975; SOARES; SOUSA, 2003; STEWART, 1998). Apesar do ácido etileno diamino tetracético (EDTA) ser o agente quelante mais utilizado na Endodontia, esta substância tem se mostrado bastante irritante. Dentre os ácidos orgânicos utilizados como coadjuvante na limpeza do canal radicular, o ácido cítrico é o mais empregado.

Sterrett et al. (1993) demonstraram através de análise pelo espectrofotômetro de absorção atômica que os efeitos do ácido cítrico sobre a dentina variam de acordo com a concentração (0%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% e 65%) e tempo de aplicação (1, 2 e 3 minutos). Os resultados da quantificação de cálcio demonstraram que o pico de desmineralização ocorreu nas concentrações de 25% e 30%. Gavini et al. (1995) também pesquisaram o efeito desmineralizador do ácido cítrico 25% e 50%, EDTA 17% e soro fisiológico. Comparando-se a perda de massa de fragmentos dentinários, previamente pesados e posteriormente imersos nestas soluções testes por 15 minutos, 24, 48 e 72 horas, pôde-se concluir que os ácidos cítricos nas concentrações de 25% e 50% foram as soluções mais efetivas na desmineralização dos fragmentos de dentina. Recentemente, Soares et al. (2000) e Sousa et al. (2000) mostraram através de metodologias similares, porém utilizando diferentes substratos, a efetividade do ácido cítrico como solução desmineralizadora em comparação ao EDTA e EGTA. Conforme os dados anteriormente apresentados, o ácido cítrico usado como solução irrigadora na remoção da “smear layer” pode ser uma alternativa válida, levando em consideração seu poder desmineralizante.

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.

Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações – teste edemogênico.

Salusvita,

Bauru, v. 22, n. 2,

p. 171-180,

2003.

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.
Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações – teste edemogênico.
Salusvita,
Bauru, v. 22, n. 2,
p. 171-180,
2003.

Outra característica relevante na escolha de uma solução irrigadora é o aspecto biológico. O efeito da aplicação do ácido cítrico, em preparos cavitários, sobre a polpa dental foi investigado por Lee et al. (1971) e Cotton e Siegel (1977). Os resultados da análise histopatológica, em ambos os trabalhos, demonstraram que não houve dano severo ou irreversível na polpa dental. Posteriormente, Mcinnes-Ledoux et al. (1985) também realizaram um estudo sobre a resposta pulpar frente a três soluções diluídas de ácido cítrico usadas na remoção da “smear layer” de preparos cavitários classe V. A resposta pulpar induzida pela solução aquosa de ácido cítrico a 1%, ácido cítrico a 0,1% e 1% diluídas em 30% de etanol, aplicadas em cavidades forradas ou não com Dycal, foi analisada histologicamente em três períodos de tempo (3, 31 e 59 dias). A severidade e a incidência da inflamação superficial diminuíram com o tempo e também com a aplicação do Dycal. Os autores sugerem a utilização do ácido cítrico, porém em conjunto com materiais forradores à base de hidróxido de cálcio.

Através da técnica de exsudação do azul de Evan's, Sousa (1999) avaliou as reações teciduais após aplicação de EDTA, EGTA e ácido cítrico em intervalos de 1/2, 1, 3 e 6 horas. O ácido cítrico foi a substância menos irritante independente do tempo analisado. Seguindo a mesma linha de pesquisa, Soares e Sousa (2003) deram continuidade ao trabalho anteriormente mencionado, estendendo os períodos de tempo avaliados para 12, 24 e 48 horas. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) entre o EGTA e o ácido cítrico, porém constatou-se diferença entre o EDTA e todos os demais grupos. Em ambos os trabalhos, o EDTA foi a substância mais irritante independente do tempo analisado.

Chan et al. (1999) investigaram as alterações morfológicas associadas com os efeitos citoestático e citotóxico do ácido cítrico em cultura de células humanas da polpa dental. As concentrações de ácido cítrico variaram de 0,01 a 1% e o tempo de incubação foi mantido desde 0,5 até 3 horas. Os efeitos tóxicos do ácido cítrico foram associados com a diminuição do pH da cultura. A exposição das células em ácido cítrico puro a 1% (pH=2,26), por 60 segundos, causou morte celular imediata. Os efeitos citotóxico e citoestático do ácido cítrico foram classificados como dependentes da concentração. Nas concentrações de 0,1%, 0,25%, e 0,5% o ácido cítrico inibiu em 20%, 74% e 98% a viabilidade celular em número, quando comparado com um grupo controle não tratado. Os autores preconizaram que certos fatores devem ser considerados para a utilização do ácido cítrico como: concentração, tempo de aplicação controlada.

Fica clara a importância que deve ser dispensada quando inadvertidamente estes ácidos são levados à intimidade dos tecidos periapicais, pois podem alterar alguns processos fisiológicos locais.

Levando em consideração a importância que o aspecto biológico exige na escolha de uma solução irrigadora utilizada durante a terapia do sistema de canais radiculares, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial irritativo do ácido cítrico, em diferentes concentrações e valores de pH similares (1,0), nos períodos de tempo de 1/2, 1, 3 e 6 horas, fazendo-se uso da técnica de exsudação dos corantes vitais.

MATERIAIS E MÉTODOS

SOLUÇÕES TESTES:

As soluções de ácido cítrico (MERCK, Indústria Brasileira) nas concentrações de 1%, 5%, 10% e 25%, em pH 1,0, foram preparadas pelo Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia - USC. Os sais foram pesados, diluídos em água deionizada, seus pH ajustados em pHmetro (B371 da Micronal, São Paulo, Brasil, Manufaturas).

TÉCNICA DE EXSUDAÇÃO DE CORANTES VITAIS

Foram selecionados, para este estudo, 32 ratos machos adultos da linhagem Wistar, “*Rattus norvegicus*”, variação albina, com peso corporal de aproximadamente 360 gramas. Anteriormente aos procedimentos operatórios, os animais foram anestesiados pela injeção intramuscular de hidrato de cloral 10% (Farmácia de Manipulação, São Paulo, Brasil) associado ao cloridrato de xilazina (Virbac do Brasil, São Paulo). Posteriormente, os animais receberam a injeção do corante azul de Evans 2% (MERCK, Alemanha) por via intravenosa (veia caudal lateral), administrado na proporção de 20 mg/kg de peso corporal. Para uma melhor visualização da veia, a cauda do animal foi previamente lavada com água e sabão.

Em quatro pontos pré-determinados e depilados da região dorsal de cada animal foi injetado, no tecido subcutâneo, 0,1 ml das substâncias testes do ácido cítrico nas diferentes concentrações.

A avaliação do exsudato inflamatório foi realizado nos períodos de 1/2, 1, 3 e 6 horas. Para cada período de tempo, 8 animais foram utilizados. Decorrido os respectivos períodos, os animais foram sacrificados pela injeção, por via intraperitoneal, de uma dose excessiva de hidrato de cloral associado ao cloridrato de xilazina (proporção de 100 mg/kg, suas peles dorsais depiladas e excisadas com margem de segurança e os locais que apresentaram halos de edema

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.

Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações – teste edemogênico.

Salusvita,
Bauru, v. 22, n. 2,
p. 171-180,
2003.

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.
Avaliação da biocom-
patibilidade do ácido
cítrico em diferentes
concentrações – teste
edemogênico.
Salusvita,
Bauru, v. 22, n. 2,
p. 171-180,
2003.

de cor azulada, foram seccionados com um vazador de ferro (3,0 cm de diâmetro). Os círculos de pele assim obtidos foram reduzidos a pequenos fragmentos, imersos em 10 ml de formamida (LabCenter – Brasil) e mantidos em estufa a 45°C por 72 horas, para extração total do corante.

Após o período de 72 horas, as soluções foram filtradas em lâ de vidro e recolhidas em tubos de ensaio para serem submetidas à análise em espectrofotômetro, empregando comprimento de onda de A⁶²⁰ (Espectrofotômetro: UV Visible Spectrophotometer, Cary 50 Bio, USA). O valor obtido de cada amostra em absorvância foi transformado em mg e submetido ao tratamento estatístico. A fórmula aplicada foi: mg = absorvância x fator de cálculo x volume total de formamida. Os dados obtidos expressos em mg foram submetidos ao teste estatístico não paramétrico de medidas repetidas (Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks).

RESULTADOS

Os dados apresentados nas tabelas a seguir definem o potencial irritativo do ácido cítrico nas diferentes concentrações, correlacionando-as aos tempos de 1/2, 1, 3 e 6 horas. Os valores referentes à quantificação de corante extravasado (mg) dos diversos grupos nos diversos períodos de tempo estão expressos na TABELA 1. A TABELA 2 apresenta as medianas e semi-amplitude interquartílicas da quantificação de corante extravasado (mg) e respectivos resultados do teste estatístico não paramétrico (variância a 2 critérios) da comparação de tempo e substância. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o ácido cítrico nas diversas concentrações estudadas, nos tempos de 1/2h, 3h e 6h. No período de 1h, notou-se uma diferença significativa entre o ácido cítrico 10% e 25% ($p < 0,05$). Porém, entre as concentrações de 1% e 5%, não foi detectada nenhuma diferença estatística.

Analisando os dados levando em consideração as substâncias isoladamente no decorrer do tempo, observou-se que o ácido cítrico a 1% manteve-se indiferente ao tempo. Já nas concentrações de 5% e 25%, houve diferença significativa entre o grupo de 1/2h com os demais grupos de tempo ($p < 0,05$). Na concentração de 10%, o ácido cítrico apresentou diferença estatisticamente significativa no tempo de 3h em relação aos demais grupos de tempo.

TABELA 1 – Quantificação de corante extravasado (mg) nos diversos grupos experimentais

Tempo	Animal	Ácido cítrico 1%	Ácido cítrico 5%	Ácido cítrico 10%	Ácido cítrico 25%
1/2h	1	136,68	80,92	112,88	116,96
1/2h	2	114,24	38,76	82,96	68,00
1/2h	3	113,56	119,68	212,16	139,40
1/2h	4	138,72	80,24	103,36	136,68
1/2h	5	161,84	112,88	125,80	157,76
1/2h	6	138,72	71,40	174,76	144,16
1/2h	7	96,56	199,24	175,44	85,68
1/2h	8	125,12	116,28	169,32	103,36
1h	1	154,36	216,92	109,48	173,40
1h	2	157,08	214,20	182,92	233,24
1h	3	119,68	127,84	147,56	180,20
1h	4	100,64	121,72	105,40	130,56
1h	5	102,00	147,56	129,88	138,72
3h	6	206,04	208,76	238,00	268,60
3h	7	189,72	244,80	267,24	123,76
3h	8	125,12	227,12	280,16	278,12
6h	1	137,36	184,28	201,96	167,28
6h	2	72,08	97,92	121,72	133,96
6h	3	316,88	170,00	172,04	294,44
6h	4	123,08	94,52	167,28	208,08
6h	5	89,08	124,44	110,84	127,16
6h	6	178,84	300,56	214,88	312,12
6h	7	79,56	174,76	161,84	165,92
6h	8	176,80	223,04	216,24	165,24

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.
Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações – teste edemogênico.
Salusvita,
Bauru, v. 22, n. 2,
p. 171-180,
2003.

DISCUSSÃO

Na ciência, é constante a busca de novos compostos e substâncias ou mesmo a aplicação dos já existentes para outros fins. A avaliação da biocompatibilidade dos ácidos orgânicos deve ser valorizada, considerando a possibilidade do extravasamento inadvertido desses ácidos no tecido periapical durante o preparo biomecânico, o que pode ocasionar alguma resposta tecidual adversa.

O ácido cítrico tem-se mostrado bastante efetivo na remoção da “smear layer” (GAVINI et al., 1995; SOARES et al., 2000; SOUSA et al., 2000). Contudo, quanto a sua biocompatibilidade,

TABELA 2 - Mediana e semi-amplitude interquartílica da quantificação de corante extravasado (mg) e respectivos resultados do teste estatístico não paramétrico da comparação de tempo e substância.

Tempo	Concentração				Resultado do teste da concentração
	Ácido cítrico 1%	Ácido cítrico 5%	Ácido cítrico 10%	Ácido cítrico 25%	
1/2h.	130,90±32,64 a A	96,90±80,24 a A	147,56±64,60 a A	126,82±44,88 a A	6,15 (p<0,05)
1h.	146,88±36,72 a AB	137,70±62,56 b AB	127,84± 52,70 a A	176,80±1,34 b B	8,25 (p<0,05)
3h.	194,82±84,66 a A	219,94±155,04 b A	238,00± 35,02 b A	247,52±120,36 b A	5,85 p<0,05)
6h.	130,22±122,40 a A	172,38±103,20 b A	169,66±52,70 a A	166,60±92,48 b A	5,70 (p<0,05)
Resultado do teste de tempo	7,42 (p<0,05)	10,91 (p<0,05)	17,98 (p<0,01)	11,63 (p<0,01)	

os dados são controversos, principalmente quanto a sua aplicação na Periodontia, Dentística e Endodontia. A razão para esta diversidade de dados é em decorrência das diferentes condições metodológicas, concentrações, forma e tempo de aplicação e pHs utilizados nos experimentos. Todos estes fatores são condicionantes ao seu comportamento clínico. Sabendo que a concentração deste ácido e um fator significativo na sua eficiência (GAVINI et al., 1995; STERRETT et al., 1993; STEWART, 1998) e biocompatibilidade (CHAN et al., 1999; COTTON; SIEGEL, 1977; KITCHINGS et al., 1984; LOEL, 1975; MCINNES-LEDOUX et al., 1985; REGISTER; BURDICK, 1975), nós nos propusemos a verificar o potencial irritante de diferentes concentrações do ácido cítrico. A escolha das concentrações e pH se baseou na literatura e nas de maior uso na clínica odontológica.

O método utilizado nesta pesquisa se baseia na avaliação do exsudato produzido como consequência do aumento da permeabilidade vascular, em decorrência do potencial irritante das substâncias testadas, e que podem ser inferidos através de medidas espectrofotométricas do corante vital extravasado (UDAKA et al., 1970). Trabalhos anteriores empregaram esta metodologia para verificar o po-

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.
Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações – teste edemogênico.
Salusvita,
Bauru, v. 22, n. 2,
p. 171-180,
2003.

tencial irritante de diversas substâncias irrigadoras do sistema de canais radiculares (SOARES; SOUSA, 2003; SOUSA, 1999). Este método também tem sido extensivamente aplicado na avaliação do efeito antiinflamatório de determinados fármacos (CATANZARO-GUIMARÃES, 1996).

Especula-se se o responsável pelo efeito deletério do ácido cítrico no tecido conjuntivo, seja o seu pH (CHAN et al., 1999; COTTON; SIEGEL, 1977). No tecido pulpar este efeito é caracterizado pela presença de desorganização da camada odontoblástica, inflamação, necrose e formação de microabscessos. Segundo Chan et al. (1999), o efeito tóxico do ácido cítrico na cultura de células pulpares humanas está associado ao decréscimo dos valores de pH do meio de cultura, que variaram de 7,2 para 2,26. A citotoxicidade estaria representada por danos na membrana celular e função mitocondrial.

Na Endodontia, esta acidez do meio, no caso da dentina e tecidos periapicais, poderia ser minimizada pelo uso de cimentos obturadores à base de hidróxido de cálcio que poderia neutralizar esse efeito residual. Esta colocação está embasada nos dados fornecidos no experimento de McInnes-Ledoux et al. (1985), que recomendam a utilização do ácido cítrico na remoção da “smear layer” em preparos cavitários, porém tendo o cuidado de aplicar um forramento adequado. O hidróxido de cálcio contido no Dycal poderia neutralizar o ácido, ou selar os túbulos dentinários, bloqueando, por conseguinte, a passagem deste ao tecido pulpar.

Trabalhos realizados anteriormente no nosso laboratório, comparando o potencial irritativo do ácido cítrico com agentes quelantes de aplicabilidade na Endodontia, têm demonstrado que este ácido apresenta-se pouco irritante (SOARES; SOUSA, 2003; SOUSA, 1999). Os resultados em ordem decrescente da média de potencial irritativo no trabalho de Sousa (1999) foram: EDTA (1447,33 mg), EGTA (770,59 mg), ácido cítrico (329,8 mg) e soro fisiológico (139,55mg), sendo observado diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,01$) entre todos os grupos. Já no de Soares e Sousa (2003), as médias de potencial irritativo das substâncias foram: EDTA (477,69 mg), EGTA (199,25 mg), ácido cítrico (218,07 mg) e soro fisiológico (103,17 mg).

Os resultados desta pesquisa mostraram que todas as soluções tiveram suas maiores medianas no período de tempo de 3h, ou seja, elas causaram maior irritação neste momento. Período este também onde se nota as diferenças de comportamento entre as diversas concentrações. Inicialmente (1/2 hora) todas foram irritantes ao tecido conjuntivo e no decorrer do tempo, elas se diferenciaram entre si. Com relação à concentração, vimos que, a 1% e 10%, as

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.
Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações – teste edemogênico.
Salusvita,
Bauru, v. 22, n. 2,
p. 171-180,
2003.

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.
Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações – teste edemogênico.
Salusvita,
Bauru, v. 22, n. 2,
p. 171-180,
2003.

soluções de ácido cítrico são menos irritantes que as demais. Houve uma semelhança de comportamento entre as soluções a 5% e 25% nos períodos de tempo de 1,3 e 6h, sendo as mais irritantes. A solução mais biocompatível foi o ácido cítrico a 1%.

CONCLUSÃO

Os autores recomendam cautela no uso clínico deste ácido, optando sempre que possível por concentrações mais baixas e utilizando cimentos obturadores à base de hidróxido de cálcio para minimizar o possível efeito residual da acidez da aplicação dos mesmos. A utilização do hipoclorito de sódio, além de aumentar o efeito de limpeza, também irá contribuir para o tamponamento do meio.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pela concessão de bolsa de Iniciação científica (01/10672-9), e ao Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani, pela realização da análise estatística.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CATANZARO-GUIMARÃES, S. A. et al. Assessment of the antiexudative and antiproliferative activities of non-steroidal anti-inflammatory drugs in inflammatory models developed in rats by subcutaneous implantation of bacterial cell walls from the dental plaque. *Inflammation*. v. 20, n. 6, p. 623-636, Dec. 1996.
2. CHAN, C. et al. Morphological alterations associated with the cytotoxic and citoestatic effects of citric acid on culture human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*. v. 25, n. 5, p. 354-358, May 1999.
3. COTTON, W. R.; SIEGEL, R. L. Pulp response to citric acid cavity cleanser. *US Navy Med.*, v. 28, n. 7, p. 27-29, July 1977.
4. GAVINI, G. et al. In vitro analysis of the demineralizing effect of some root canal irrigating solutions in different periods of time. *Rev. Odontol. UNICID*, v. 7, n. 2, p. 83-89, jul./dez. 1995.
5. KITCHINGS, S. K. et al. The pulpal response to topically applied citric acid. *Oral Surgery*, v. 58, n. 2, p. 199-206, Aug. 1984.
7. LEE, H. L. et al. An adhesive dental restorative material. *J. Dent Res.*, v. 50, n. 1, p. 125-132, Jan./Feb. 1971.

8. LOEL, D. A. Use of acid cleanser in endodontic therapy. *J. Amer. Dent. Assoc.*, v. 90, n. 1, p. 148-151, Jan. 1975.
9. MC COMB, D.; SMITH, D. C. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J. Endod.*, v. 1, n. 7, p. 238-242, July 1975.
10. MCINNES-LEDOUX, P. et al. The pulpal response to dilute citric acid smear removes. *J. Oral Rehabil.*, v. 12, p. 215-228, 1985.
11. REGISTER, A. A.; BURDICK, F. A. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. *J. Periodont.*, v. 46, n. 11, p. 646-655, Nov. 1975.
12. SOARES, A. B.; SOUSA S. M. G. Avaliação da biocompatibilidade do EDTA, EGTA e ácido cítrico em tecido subcutâneo de ratos. *Revista Odonto Ciência*, v. 18, n. 39, p. 17-22, 2003.
13. SOARES, A. B. et al. Chelating potencial of three acids by atomic adsorption spectrophotometry. *J. Dent. Res.*, v. 7, p. 276, 2000.
14. SOUSA, S. M. G. *Avaliação da biocompatibilidade do EDTA, EGTA e ácido cítrico pela técnica de exsudação de corantes vitais*. Bauru, 1999, 80p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, SP.
15. _____. et al. Desmineralizing efficacy of EGTA, EDTA and citric acid on dentin. *J. Dent. Res.*, v. 79, p. 347, 2000.
16. STERRETT, J. O. et al. Dentin demineralization the effects of citric acid concentration and application time. *J. Clin. Periodontal*, v. 20, p. 366-370, 1993.
17. STEWART, G. G. A scanning electron microscopic study of the cleansurg: effectueness of these imageting modalities on the tubular structure of dentin. *J. Endod.*, v. 24, n. 7, p. 485-486, July, 1998.
18. UDAKA, K. et al. Simple method for quantitation of enhanced vascular permeability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* v. 133, p. 1384-1387, 1970.

JÚNIOR,
Roberto Trujillo
et al.
Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações – teste edemogênico.
Salusvita,
Bauru, v. 22, n. 2,
p. 171-180,
2003.