

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
CENTRO INTEGRADO DE SAÚDE  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PPG- MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

**ELYSANGELA BORGES DE MENEZES**

**AVALIAÇÃO EM MICROSCOPIA ÓPTICA E ELETRÔNICA DE  
VARREDURA DA INFLUÊNCIA DO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE  
CONDICIONANTE SOBRE O SELAMENTO MARGINAL EM  
CAVIDADES CLASSE II: UM ESTUDO “*IN VITRO*”.**

Juiz de Fora

2013

**ELYSANGELA BORGES DE MENEZES**

**AVALIAÇÃO EM MICROSCOPIA ÓPTICA E ELETRÔNICA DE  
VARREDURA DA INFLUÊNCIA DO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE  
CONDICIONANTE SOBRE O SELAMENTO MARGINAL EM  
CAVIDADES CLASSE II: UM ESTUDO “*IN VITRO*”.**

Dissertação apresentada ao PPG-Mestrado em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de concentração em Clínica Odontológica

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília Nalon Pereira, C.D., M.O., D.O.**

Juiz de Fora

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Menezes, Elysangela Borges de Menezes.

Avaliação em Microscopia Óptica e Eletrônica de Varredura da Influência do Ácido Cítrico como agente condicionante sobre o Selamento Marginal em Cavidades Classe II: um estudo "in vitro" / Elysangela Borges de Menezes Menezes. -- 2013.  
70 p. : il.

Orientador: Marília Nalon Pereira Pereira

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, 2013.

1. Ácido Cítrico. 2. Dentina. 3. Microinfiltração. I. Pereira, Marília Nalon Pereira, orient. II. Título.

**ELYSANGELA BORGES DE MENEZES**

**AVALIAÇÃO EM MICROSCOPIA ÓPTICA E ELETRÔNICA DE  
VARREDURA DA INFLUÊNCIA DO ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE  
CONDICIONANTE SOBRE O SELAMENTO MARGINAL EM  
CAVIDADES CLASSE II: UM ESTUDO “*IN VITRO*”.**

Trabalho apresentado ao PPG- Mestrado em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos ao título de Mestre em Odontologia, área de concentração: Clínica Odontológica. Aprovado em \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013, pela Banca Examinadora composta por:

---

Prof.<sup>a</sup>. Marília Nalon Pereira  
Doutora – UFJF  
Orientadora

---

Prof. Leonardo Cesar Costa  
Doutor- UFJF  
Membro Titular

---

Prof.<sup>a</sup> Cristiane de Souza Salgado  
Doutora- UFF

## **Dedico este trabalho**

*A minha mãe Alcina, pela dedicação e amor incondicional. Por ser esta mãe maravilhosa, digna, acolhedora. Obrigada por estar sempre presente em minha vida e me apoiar em todos os momentos.*

*A meu pai Antonio Mario, exemplo de dignidade. Meu amor por este homem maravilhoso vem conduzindo todos os passos da minha vida. Espero que seus ensinamentos estejam sempre presentes na minha caminhada. Você é a razão de tudo! Obrigada pai!  
Amo você!*

*A meu marido Anderson, pelo apoio e compreensão. Grande companheiro, brilhante professor! Suas sábias palavras me deram força em momentos incertos. Ter você ao meu lado me fortalece!  
Te Amo!*

*Aos meus irmãos Cristiane e Carlos Eduardo, por seu companheirismo e amor incondicional. A minha amada sobrinha Anna Clara pelo carinho de sempre.*

*A minha querida avó Maria Eugênia, a quem sempre tive profunda admiração. Ainda posso senti-la, sei que esteve sempre ao meu lado.  
Continuo te amando!*

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

*À Pfra Dra Marília Nalon Pereira, que abriu as portas da Universidade Federal de Juiz de Fora para mim. Pela confiança, carinho, ensinamentos e generosidade! Ao longo destes dois anos descobri em você, Marília, uma pessoa maravilhosa! Digna, humana, solidária, carinhosa, uma guerreira! A convivência com você contribuiu de forma engrandecedora para o meu crescimento profissional e pessoal, serei eternamente grata por tudo que você fez por mim.*

*Muito Obrigada!*

*Ao Pfr Luiz Eduardo de Almeida, meu amigo querido, nunca poderei expressar em palavras a minha gratidão! Exemplo de vida, dignidade e de bondade. Como descrever alguém tão iluminado? Você tornou um sonho distante realidade! Obrigada pelo carinho e confiança. Tê-lo ao meu lado é um presente de Deus. Você é muito especial!*

*Muito Obrigada!*

*“Para realizar grandes conquistas,  
devemos não apenas agir, mas também sonhar;  
não apenas planejar, mas também acreditar.”*

*Anatole France*

## **AGRADECIMENTOS**

*O fim desta jornada significa uma grande realização. Ver um sonho tornar-se realidade é a certeza de que tudo que fazemos com amor e dedicação concretiza-se.*

*Gostaria de agradecer a todos que tornaram possível esta vitória.*

*À **DEUS**, pois é Ele quem me conduz e me fortalece e é a Quem atribuo todas as minhas conquistas.*

*À **Coordenadora do Programa de Pós-Graduação – Mestrado em Clínica Odontológica, Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria das Graças Afonso de Miranda Chaves**, pela oportunidade e seriedade deste programa.*

*À **Universidade Federal de Juiz de Fora, em nome do Magnífico Reitor Prof. Titular Dr. Henrique Duque de Miranda Chaves Filho**, por incentivar o desenvolvimento de pesquisas.*

*À **Faculdade de Odontologia da UFJF, em nome do Digníssimo diretor Prof. Dr. Antônio Márcio Resende do Carmo** pela oportunidade de realização deste curso.*

*Ao **Instituto Militar de Engenharia**, que permitiu a utilização de seus equipamentos para a realização desta pesquisa.*

*À **CAPES** pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento deste projeto.*

*Aos **professores do curso de Mestrado em Clínica Odontológica, em***



*especial à Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fabíola Pêsoa Pereira Leite e ao Prof Dr Leonardo Cesar Costa que fizeram colocações pertinentes no momento da minha Qualificação.*

***Ao Prof Dr Roberto,** por ter prontamente me ajudado em momento decisivo.*

***À secretária do Mestrado em Clínica Odontológica Wanessa Alonso,** pela sua atenção.*

***Aos funcionários da Faculdade de Odontologia,** em especial ao Rogério e Willian.*

***Aos colegas de curso,** por estes dois anos de convivência.*

***À minha amiga Werônica,** por ter sido minha companheira nesta jornada, pelos momentos que podemos nos ajudar ! Foi muito bom poder contar com você!*

***Ao amigo Rodrigo Falci,** por sua amizade, carinho e palavras de apoio.*

***Ao colega Ronaldinho,** por estar sempre disposto a ajudar!*

***Ao coordenador do CEO, Almir,** por ter sido solícito em todo o decorrer do Mestrado!*

***À Pfra Milene,** por estar sempre disposta a ajudar !*

***A todos os meus colegas da Prefeitura de Santos Dumont,** pelo carinho e solidariedade*

***A todos que de alguma forma contribuíram para esta grande conquista!***

**Muito Obrigada!**

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência dos géis de ácido cítrico e ácido fosfórico sobre o selamento marginal em cavidades classe II restauradas com resina composta nanoparticulada. Trinta e cinco molares humanos hígidos tiveram suas coroas preparadas com cavidades tipo *slot* vertical sendo o término gengival abaixo da junção esmalte-cimento. Os dentes foram divididos aleatoriamente em sete grupos de acordo com o agente condicionante e tempo de aplicação a ser empregado (n=10): Grupo I: Ácido Cítrico 25% por 30 segundos; Grupo II: Ácido Cítrico 35% por 30 segundos; Grupo III: Ácido Cítrico 10% por 15 segundos; Grupo IV: Ácido Cítrico 10% por 30 segundos; Grupo V – Ácido Fosfórico 35% por 15 segundos, Grupo VI: Ácido Cítrico 35% por 15 segundos, Grupo VII: Ácido Cítrico 25% por 15 segundos. As cavidades foram restauradas com resina composta nanoparticulada Filtek Z350, sendo a mesma inserida através da técnica incremental. O sistema adesivo utilizado foi Scotchbond Multi Purpose (3M). As amostras foram submetidas à termociclagem de 5000 ciclos. Posteriormente cada grupo foi imerso em solução de nitrato de prata amoniacal por 24 horas. Em seguida, os dentes foram seccionados no sentido mesio-distal e a microinfiltração marginal foi avaliada através do Microscópio Óptico (MO) pelo método de escores. O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) foi utilizado para observação qualitativa da presença ou não de fendas na restauração. Para esta análise foi selecionado o pior e o melhor resultado de cada grupo. Os resultados foram submetidos a análise estatística pelo teste não-paramétrico de Kruskal Wallis, e análise de Variância de Mann-Whitney ( $p=0,05$ ). O estudo concluiu que a concentração e tempo de aplicação do ácido cítrico têm efeito estatisticamente significativo na microinfiltração marginal. O ácido cítrico provou ser um possível substituto do ácido fosfórico no condicionamento ácido dentinário.

**Palavras-chave:** Microinfiltração; Dentina; Ácido cítrico.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of the gels of citric acid and phosphoric acid on microleakage in class II cavities restored with composite nanoparticle. Thirty five human molars were used, in which were made cavities as vertical slots with gingival ending below the enamel-cementum junction. The teeth were randomly divided into seven groups according to the conditioning agent and application time to be used (n=10): Group I: 25% citric acid for 30 seconds; Group II: 35% citric acid for 30 seconds; Group III 10% citric acid for 15 seconds and Group IV: 10% citric acid for 30 seconds and Group V - 35% phosphoric acid for 15 seconds, Group VI: 35% citric acid for 15 seconds, Group VII: 25% citric for 15 seconds. The cavities were restored with Filtek Z350 composite nanoparticles; which was introduced in the cavity by an incremental technique. The adhesive system was Scotchbond Multi Purpose (3M). The samples were subjected to thermocycling for 5000 cycles. Afterwards each group was immersed in a solution of ammoniacal silver nitrate for 24 hours. Then, the teeth were sectioned mesio-distal and microleakage was evaluated by the Optical Microscope (OM) using the scores. The Scanning Electron Microscope (SEM) was used for qualitative observation of the presence or absence of cracks in the restoration. For this analysis we selected the worst and the best result for each group. The results were submitted to a statistic analysis using the Kruskal Wallis Test and with the Mann-Whitney ( $p=0,05$ ). The study concluded that the concentration and time of application of citric acid have statistically significant effect on microleakage. Citric acid proved to be a possible replacement of phosphoric acid etching on dentin.

**Keywords:** *Citric acid. Dentin. Microleakage*

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS .....</b>	<b>18</b>
2.1- AGENTES CONDICIONANTES.....	22
2.1.1 - ÁCIDO FOSFÓRICO.....	22
2.1.2 - ÁCIDO CÍTRICO.....	25
<b>3 PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>44</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>56</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>61</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>71</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> Matriz de Silicona Pesada .....	44
<b>Figura 2</b> Preparo Cavitário classe II tipo <i>slot</i> vertical.....	45
<b>Figura 3</b> Copyng Metálico.....	46
<b>Figura 4</b> Broca Diamantada 4138 ( KG Sorensen).....	46
<b>Figura 5</b> Aferição do Preparo com o Copyng.....	46
<b>Figura 6</b> Apresentação comercial dos sistemas adesivos .....	48
<b>Figura 7</b> Apresentação Comercial da Resina Z350 (3M/ESPE) .....	48
<b>Figura 8</b> Matriz de Poliéster Posicionada.....	49
<b>Figura 9</b> Incremento Horizontal.....	49
<b>Figura 10</b> Incremento Oblíquo.....	49
<b>Figura 11</b> Máquina de Termociclagem.....	50
<b>Figura 12</b> Amostra impermeabilizada e impregnada com nitrato de prata amoniacal.....	51
<b>Figura 13</b> Máquina Isomet 1000.....	52
<b>Figura 14</b> Corte Mesio- Distal.....	52
<b>Figura 15</b> Amostra fixada em lâmina de vidro.....	53
<b>Figura 16</b> Microscópio Óptico.....	54
<b>Figura 17</b> Escores de microinfiltração marginal- Evidenciador nitrato de prata amoniacal.....	56
<b>Figura 18</b> Imagens obtidas pelo MEV com aumento de 100X.....	59

## LISTA DE ABREVIÇÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

CDTA	Ácido Ciclohexanodiamino tetracético
EDTA	Ácido Etilenodiamino tetracético
EDTAC	Ácido Etilenodiamino tetracético e Cetavilon
EGTA	Etileno Glicol Eterdiamino tetraacético
°C	Grau Celcius
®	marca registrada
µm	Micrômetro
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
MFA	Microscopia de Força Atômica
MO	Microscópio Óptico
ml	Mililitros
mm	Milimetro
mW/cm <sup>2</sup>	Miliwatts por centímetro quadrado
Ppm	Partes por milhão
pH	Potencial de hidrogênio
%	Porcentagem
SiC	Carborundum

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

<b>Quadro 1</b> Grupos de estudo de acordo com o tempo de aplicação e concentração do agente condicionante.....	47
<b>Quadro 2</b> Escores utilizados para avaliação da microinfiltração marginal na parede cervical.....	53
<b>Quadro 3</b> Divisão dos Grupos- Agentes condicionantes, tempo de aplicação e concentração cervical.....	55
<b>Tabela 1</b> Teste de Kruskal – Wallis. ....	57
<b>Tabela 2</b> Teste Qui-Quadrado.....	57
<b>Tabela 3</b> Teste de Mann-Whitney .....	58

# 1 INTRODUÇÃO

A longevidade dos procedimentos restauradores está relacionada, entre outros fatores, à obtenção de uma perfeita adaptação, assim como uma união forte e durável entre os materiais restauradores e a estrutura dentária. O entendimento dos fatores que causam a desadaptação marginal é essencial para o desenvolvimento de técnicas e materiais que a minimizem (NUNES; FRANCO; PEREIRA, 2005).

O termo microinfiltração foi, inicialmente, definido como a passagem de produtos bacterianos, fluidos orais, moléculas ou íons através de fendas, oriundas do deficiente selamento dos materiais restauradores às margens cavitárias (KIDD, 1976). Assim, o selamento marginal de uma restauração é um dos fatores de maior importância para o sucesso clínico, especialmente quando a margem gengival é em dentina ou em cimento. A sua falha pode acarretar em reincidência de cáries dentárias e possível patologia pulpar (NAUFEL; SCHMITT; CHAVES, 2003).

A adesão efetiva dos materiais restauradores estéticos à superfície dentária tornou-se possível após a introdução da técnica de condicionamento ácido em esmalte por Buonocore et al., em 1955. Porém, a adesão à dentina não é tão previsível como observado no substrato do esmalte. Vários são os fatores que contribuem para este fato, dentre os quais pode-se destacar a composição orgânica e a umidade contida nos túbulos dentinários. (ALEHAIDEB; MOHAMMED, 2000).

Diante da importância do condicionamento ácido no processo de adesão, Nakabayashi et al., em 1982, foram um dos primeiros autores a relatarem altos valores de resistência de união à dentina com a utilização de solução de ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3%, capaz de desmineralizar superficialmente a dentina associado ao uso de monômeros resinosos. Esta zona de dentina infiltrada por resina foi denominada de camada híbrida, "*hybrid layer*". A retenção mecânica obtida pela formação desta camada híbrida conjuntamente com os "*tags*" ou filamentos resinosos e as ramificações laterais, podem então ser consideradas, em essência, a base da adesão à dentina na Odontologia (PASHLEY et al., 1993). Dessa forma, a camada híbrida desempenha papel fundamental no processo adesivo em relação ao



selamento marginal das restaurações, diminuição da microinfiltração, redução da sensibilidade pós-operatória e melhor retenção do material restaurador em razão do aumento na resistência de união ao esmalte e à dentina (PRATI et al., 1991; DAVIDSON et al., 1993; WALSHAW, MCCOMB, 1996; HARADA et al., 1998).

Superfícies de dentina preparadas mecanicamente são sempre cobertas pela camada de esfregaço, camada amorfa de tecido orgânico e detritos inorgânicos. A remoção da *smear layer* é necessária para que ocorra interação do sistema adesivo à dentina e formação da camada híbrida (AYAD, 2001).

Sobre as soluções ácidas utilizadas no condicionamento ácido em esmalte e dentina, há uma tendência, quase que exclusiva, ao uso do ácido fosfórico. A maioria dos sistemas adesivos utiliza ácido fosfórico nas concentrações entre 30 e 40% para preparar a superfície da dentina para receber o sistema adesivo. Quando a superfície dentinária é condicionada com ácido fosfórico nestas concentrações a *smear layer* é removida e a superfície da dentina é morfológicamente alterada (NUNES et al., 2001).

Entretanto, na ciência, é constante a busca de novos compostos e substâncias ou mesmo a aplicação dos já existentes para outros fins (TRUJILLO JUNIOR, 2003). Dentro desta perspectiva, o ácido cítrico torna-se uma nova possibilidade como mostrou Polson et al. (1984), caracterizando a referida substância como um dos mais efetivos ácidos para a remoção da camada de gordura resultante de preparos cavitários na dentística, podendo ser usado no condicionamento ácido dentário. A aplicação do ácido cítrico não somente remove a camada de gordura presente na superfície dentária, como também expõe os túbulos dentinários que se apresentam ampliados e em forma de funil devido à ação preferencial do ácido sobre as áreas mais mineralizadas da dentina peritubular. O ácido cítrico preserva a integridade das fibras colágenas desmineralizadas e forma uma complexa rede de fibras dentinárias, particularmente, nas áreas intertubular e peritubular, o que é de particular interesse quando considerado a formação da camada híbrida após a aplicação do sistema adesivo (LORENZO et al., 2002). Acrescenta-se também o fácil manuseio e o baixo custo (HASNEDAROGLU FARUK, 2003).

O ácido cítrico é efetivo na remoção da *smear layer* e promoção da desmineralização dentinária em concentrações e tempos de aplicações variados. (REIS et al., 2008). Ao ser aplicado por 3 minutos em concentração de 50% o ácido cítrico remove a *smear layer* e abre os túbulos dentinários de forma mais eficiente que o ácido fosfórico a 37% no mesmo tempo de aplicação. Provavelmente devido a capacidade deste ácido em produzir citrato de cálcio (AMARAL et al., 2011).

Diante da importância do condicionamento da estrutura dental frente à redução da microinfiltração e sabendo ser o ácido cítrico um ácido com habilidade na remoção da *smear layer* e desmineralização dentinária, porém pouco utilizado na dentística restauradora, tornou-se relevante avaliar este ácido como possível substituto do ácido fosfórico a 35% para o mesmo fim.

## 2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

O conhecimento introduzido mais profundamente da estrutura dentinária e também da camada de esfregaço proporcionou o conceito de condicionamento total de esmalte e dentina, proposto por Fusayama, em 1979 promovendo a remoção completa da *smear layer* e possibilitando a exposição das fibras colágenas, dando subsídios para a formação da camada híbrida ou hibridização da dentina, definida por Nakabayashi, em 1982, como uma camada ácido-resistente localizada abaixo da interface adesiva, formada pela interpenetração ou interdifusão do monômero resinoso entre as fibras colágenas expostas pelo condicionamento ácido. Obteve-se dessa forma o principal mecanismo de retenção dos sistemas adesivos à dentina.

Nakabayashi et al., em 1982, discorreram sobre a importância do tratamento da dentina ácido-desmineralizada com ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3% com monômeros como o metacrilato 4-methacryloxyethyl trimellitate anhydride (4-Meta) contendo grupos hidrofílicos e hidrofóbicos como sendo o passo essencial na criação de zonas de interdifusão da interface resina-dentina promovendo a penetração da resina por entre o colágeno da dentina desmineralizada.

Pashley et al., em 1993, relataram que a maioria dos métodos de adesão dentinária confiam no tratamento desmineralizante da superfície da dentina para remover a *smear layer* e criar micropóros na superfície que podem ser penetrados por agentes de união e criar a camada híbrida composta pela dentina desmineralizada em associação com o polímero do adesivo. Ampla variedade de agentes desmineralizantes é utilizada juntamente a vários sistemas adesivos e induzem a diferentes efeitos morfológicos e profundidade de desmineralização.

Titley et al., em 1994, afirmaram que a mudança na estrutura do colágeno durante a desmineralização influencia no grau de penetração da resina. O colapso do colágeno dentinário sem suporte, após a desmineralização pelos agentes condicionantes e a sua exposição ao ar impede a difusão do *primer* na área desmineralizada e tem sido associado a desidratação da mesma. Quando há colapso do colágeno, a presença de água poderá provocar aumento da rede e os efeitos são clinicamente alcançados com aplicação tanto da técnica do adesivo molhado em conjunção com *primers* livres de água, ou com utilização de *primers* contendo água.

Marshall et al., em 1998, em seus estudos sobre a cinética da desmineralização mostraram que a desmineralização é controlada por difusão e é afetada pelo pH e concentração do ácido condicionante.

Tay et al., em 2000, afirmaram que a capacidade de desmineralização do agente condicionador de superfície está relacionada à sua acidez, a qual é mensurada por seu pH. A substância mais empregada em odontologia para este fim é o ácido fosfórico, um ácido inorgânico que possui em sua molécula três radicais ionizáveis, sendo por este motivo denominado um triácido. Uma solução de ácido fosfórico, numa concentração de 35 a 37%, em virtude de seu grande potencial de ionização, resulta num pH final de 0,6. Portanto, devido à alta disponibilidade dos íons H<sup>+</sup>, sua aplicação por curtos períodos, como 15 segundos, geralmente recomendados, é capaz de produzir um padrão de condicionamento do esmalte satisfatório resultando num ótimo embricamento microscópico pelos *tags* formados.

Shashikiran et al., em 2002, discorreram sobre a importância do condicionamento ácido na modificação da superfície dentinária para obtenção de adesão suficiente da resina. A profundidade da desmineralização irá depender do tipo e concentração do ácido usado e do tempo de aplicação. A aplicação do *primer* é a etapa na qual o monômero, dissolvido em solvente como a água, álcool ou acetona, é aplicado sobre o substrato dentinário, penetra na rede de fibras colágenas e reexpande o colágeno ao nível original. O adesivo dentinário é usualmente, uma resina que penetra no substrato dentinário já submetido à ação do *primer*, copolimerizando com o mesmo para formar uma camada de colágeno e resina. Esta infiltração do agente de união dentro da camada de dentina desmineralizada resulta na formação de uma nova camada, a camada híbrida. Esta camada híbrida é uma dentina resina-infiltrada. A hibridização modifica completamente as propriedades físico-químicas da superfície do dente e pode ser considerada uma forma de engenharia tecidual. A fase mineral do tecido é propositalmente dissolvida para expor a matriz de colágeno da dentina, e esta matriz é depois infiltrada pelo monômero de resina para intencionalmente mudar as propriedades físicas e químicas do duro tecido. A infiltração do monômero de resina na dentina desmineralizada é a chave da força de união. O mecanismo de adesão está relacionado à criação da camada híbrida pelo uso do adesivo dentinário.

Trujillo Junior, em 2003, afirmaram que a adesão ao esmalte é um processo universalmente aceito e de efetividade comprovada, entretanto, nem sempre as

margens de uma restauração estão exclusivamente em esmalte. A dentina é um tecido histologicamente complexo, predominantemente tubular, com a presença de umidade e prolongamentos odontoblásticos - fatores estes que dificultam a adesão dos materiais a sua superfície. Com a evolução dos sistemas adesivos, conseguiu-se uma melhor capacidade de adesão e redução da microinfiltração marginal em dentina. Para isso, houve a necessidade de realizar procedimentos invasivos nesse tecido que podem acarretar danos à polpa, uma vez que, a dentina abriga em seu interior prolongamentos de células do tecido pulpar, não podendo ser considerada um tecido isolado, e sim um complexo dentino-pulpar.

O tratamento superficial da dentina com um ácido é um procedimento necessário, pois leva à remoção, na parte superficial do tecido, do conteúdo mineral em quase sua totalidade. (VAN MEERBACK. 2003).

Nunes, Franco e Pereira, em 2005, afirmaram que a manutenção da integridade marginal das restaurações é essencial para o sucesso clínico, sendo que sua ausência proporciona o aparecimento de microinfiltrações na interface dente/material restaurador, o que poderá causar cáries secundárias e injúrias ao complexo dentino-pulpar. A literatura mostra que não é possível se reproduzir *in vitro* as condições encontradas *in vivo* na cavidade bucal, pois os pacientes apresentam diferenças em função do risco de cárie, apresentando dieta e controles de placa individualizados. No entanto, estudos laboratoriais podem direcionar seus resultados para o desempenho clínico dos materiais avaliados. Os estudos *in vitro* têm sido largamente utilizados para avaliação de microinfiltrações na interface dente/restauração. Com a pesquisa na literatura sobre o assunto, encontra-se uma variedade de metodologias para o estudo da ocorrência de microinfiltrações marginais, que apresentam vantagens e/ou limitações. Nenhum método utilizado para a avaliação de microinfiltração na interface dente/materiais restauradores é ideal. Apesar da análise da microinfiltração marginal por meio de corantes ainda ser bastante utilizada nas pesquisas, apresenta dificuldades inerentes ao método, havendo necessidade de padronização. Uma metodologia adequada conduz a uma correta avaliação e interpretação dos resultados, permitindo, dessa forma, sua comparação e discussão. Há inúmeros trabalhos sobre este tema, mas a grande maioria não menciona as dificuldades inerentes à metodologia de análise, assim como não questionam as diferenças encontradas nos valores de infiltração entre diversas pesquisas que utilizam o mesmo material e técnica operatória.

Para visualização da microinfiltração marginal, a solução de nitrato de prata passou a ser considerado um dos agentes mais apropriados para detectar as nanoporosidades ou os sinais de degradação hidrolítica dentro da camada híbrida e adesiva, pois além de ser visualizado em microscopia óptica, pode ser avaliado em microscopia eletrônica de varredura, já que a precipitação da prata torna a região corada passível de ser visualizada durante a análise (COSTA et al. 2005). Por apresentarem pH básico, em torno de 9,5, recomenda-se a imersão dos corpos de prova em nitrato de prata tamponada, amoniacal ou a metamina de prata para contornar o inconveniente da possível interferência nos resultados, evitando-se a desmineralização do substrato imerso por várias horas na solução.

## 2.1 - AGENTES CONDICIONANTES

### 2.1.1- ÁCIDO FOSFÓRICO

A aplicação do ácido na estrutura dentinária surgiu com Buonocore, em 1955. Na busca por um substrato dental modificado que possibilitasse obter melhor adesão de materiais resinosos ao esmalte e à dentina, propôs o tratamento químico da superfície dental por ácidos. Demonstrou que a adesão de resinas acrílicas à superfície do esmalte pode ser significativamente melhorada após a aplicação da solução de ácido ortofosfórico a 85%, durante 30 segundos. O ácido atuava modificando a energia superficial do tecido por meio da criação de irregularidades seletivas, as quais facilitavam a penetração dos monômeros adesivos. Assim, permitia-se um embricamento micromecânico do adesivo nas microporosidades criadas pelo condicionamento ácido.

O condicionamento com ácido fosfórico leva à formação de irregularidades na superfície do esmalte devido à dissolução seletiva da estrutura, com um aumento significativo da área para adesão (GARONE NETO E GARONE FILHO, 1976). A concentração ideal do ácido fosfórico pode variar entre 15% e 40%. A utilização deste ácido com concentrações abaixo de 27% pode levar à formação de um precipitado de ácido dicálcio fosfato diidratado, pouco solúvel em água, que permaneceria depositado sobre a superfície, dificultando o processo adesivo. Concentrações acima de 40% podem formar um precipitado de monocálcio fosfato monoidratado, que, embora solúvel em água, gera um padrão de condicionamento inferior. (CHOW et al. 1973).

O condicionamento ácido em dentina remove parte da porção mineral, expondo fibras colágenas que possuem baixa energia de superfície. Os atuais sistemas disponíveis no mercado apresentam duas abordagens com relação ao condicionamento ácido dentinário: a remoção da *smear layer*, sistemas ditos convencionais ou modificação e incorporação da mesma. No primeiro caso, a ideia principal é remover o elo fraco de adesão, a camada de *smear layer*, uma vez que ela apresenta baixa resistência coesiva, resistência interna, e de adesão com a dentina subjacente (SWIFT et al. 1995). Isso ocorre através da utilização do ácido fosfórico a concentrações que variam de 30% a 40% por 15 segundos.

Nakabayashy e Pashley, em 2000 acrescentaram que a aplicação do ácido fosfórico também resulta na desmineralização superficial da dentina, expondo fibrilas colágenas e desobliterando os túbulos dentinários o que aumenta a permeabilidade tecidual. Entretanto, o sucesso da união depende da capacidade de penetração do adesivo nesse colágeno exposto, formando assim a camada híbrida.

Em termos de resistência de união à dentina, nos trabalhos realizados *in vitro* o tempo de 15s para o condicionamento ácido em dentina tem sido preconizado na literatura como padrão. Isso ocorre através da utilização do ácido fosfórico a concentrações que variam de 30% a 40% por 15 segundos (HASHIMOTO et al. 2000).

Bevilacqua et al., em 2000, avaliaram através da Microscopia Eletrônica de Varredura o condicionamento ácido da dentina humana utilizando diferentes soluções com tempos de aplicação de 20 e 60 segundos. Foram utilizados 14 terceiros molares nos quais foram feitos cortes transversais com discos diamantados na superfície oclusal sendo as coroas preparadas 2 mm abaixo do limite esmalte-cemento. As amostras foram então avaliadas por Microscópio Eletrônico de Varredura. A análise quantitativa revelou que em nível de 5% de significância as áreas médias dos túbulos aumentaram significativamente com um tempo maior de exposição, isto é, com 60 segundos a abertura média dos túbulos é maior que em apenas 20 segundos. Os resultados em apenas 20 segundos de exposição, revelaram que as aberturas médias dos túbulos devidas às soluções de ácido fosfórico a 37% e ácido maléico a 10% não diferiram entre si, mas são significativamente maiores que as outras. As áreas médias devidas à solução de ácido cítrico a 10% são menores que qualquer outra. Tomando como base as exposições por 60 segundos verificou-se que a área média relativa à solução de ácido cítrico é significativamente menor que todas as outras. Concluíram que o ácido fosfórico a 37% não apresenta diferença quando aplicado por 20 ou 60 segundos com relação à morfologia da superfície dentinária, porém estatisticamente a abertura dos túbulos dentinários é maior quando o ácido é aplicado por 60 segundos. Na concentração de 10% o tempo ideal de condicionamento com o ácido fosfórico e ácido maléico é de 60 segundos para que haja remoção da *smear layer* e *smear plugs*. O ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3% aplicados por 20 ou 60 segundos mostraram-se menos efetivos na abertura dos túbulos dentinários quando



comparado com os ácidos fosfóricos e ácido maléico. O EDTA não remove os *smear plugs*.

Campos, Amaral e Porto Neto, em 2002 avaliaram *in vitro* os efeitos de diferentes tempos de condicionamento dentinário sobre a microinfiltração marginal em cavidades de classe V restauradas com resina composta (Z-100 – 3M) e diferentes sistemas adesivos (Prime&Bond 2.1 – Dentsply e Single Bond – 3M). Utilizaram vinte molares humanos hígidos, recentemente extraídos, previamente limpos e analisados em lupa estereoscópica. Prepararam 40 cavidades de classe V nas faces vestibular e lingual dos dentes selecionados, e a parede cervical ficou localizada abaixo da junção esmalte-cimento. Formaram-se quatro grupos com 5 dentes cada (10 cavidades), variando-se o tempo de condicionamento com o ácido fosfórico a 36% (Conditioner 36 – Dentsply) e o sistema adesivo, sendo: G1: condicionamento ácido por 15 segundos; G2: Condicionamento ácido por 30 segundos. Sistema adesivo – Prime&Bond 2.1 (Dentsply); G3: Condicionamento ácido por 15 segundos. Sistema adesivo – Single Bond (3M); G4: Condicionamento ácido por 30 segundos. Sistema adesivo – Single Bond (3M). Após a confecção dos preparos cavitários, as cavidades foram condicionadas em esmalte e dentina por 15 ou 30 segundos, de acordo com o grupo, com ácido fosfórico 36% sendo, a seguir, lavadas com jatos de água por 30 segundos e secas com leves jatos de ar, não havendo tempo de secagem predeterminado. A microinfiltração marginal foi avaliada por inspeção visual através de lupa estereoscópica. Não houve diferença significativa entre G1 e G3. Apesar de não significativas com nível de 5%, pode-se dizer que houve uma tendência de a microinfiltração cervical ser menor para G2 em relação a G1. Também houve uma tendência de a microinfiltração cervical ser menor para G3 em relação a G4. Concluíram que nenhum sistema restaurador adesivo testado foi capaz de evitar a microinfiltração marginal cervical. Considerando-se o tempo de 30 segundos, o sistema adesivo Prime&Bond 2.1 apresentou melhor comportamento no controle da microinfiltração marginal na parede cervical que o Single Bond. Para o tempo de condicionamento de 15 segundos, os materiais estudados não apresentaram diferenças significativas em relação a infiltrações cervicais. O tempo de condicionamento produziu efeitos diferentes nos dois materiais estudados, e, no tempo de 15 segundos, obteve-se o melhor resultado com o sistema adesivo Single Bond, enquanto o tempo de 30 segundos foi melhor para o Prime&Bond 2.1.

A maioria dos sistemas adesivos utiliza o ácido fosfórico de 30 a 40% para preparar a superfície dentinária e, em seguida, receber a aplicação dos componentes adesivos. Quando a dentina é condicionada com ácido fosfórico nestas concentrações a *smear layer* é totalmente removida e a superfície da dentina é modificada morfologicamente (SARDELLA et al., 2005).

Pimenta et al., em 2010, avaliaram alterações na dentina superficial de dentes decíduos após aplicação do ácido fosfórico em diferentes concentrações e tempos de aplicação. Vinte e quatro molares humanos foram utilizados para o estudo. Superfícies planas de dentina foram feitas após a remoção do terço oclusal da coroa com disco diamantado em baixa rotação (Isomet 1000 Buehler, Lake Bluff, IL, USA).. As amostras foram divididas em quatro grupos: G1: sem tratamento; G2: ácido fosfórico a 37%; G3: ácido fosfórico a 32%; G4: ácido fosfórico a 10%. Cada amostra foi dividida em duas metades que foram tratadas por 7 segundos (T1) e 15 segundos (T2). Através da análise por MEV foi possível constatar diferença significativa na média do diâmetro dos túbulos dentinários em cada grupo avaliado. Comparando os diferentes grupos não houve diferença para o tempo de 7 segundos (T1). O mesmo resultado foi observado para o tempo de 15 segundos (T2), exceto para o grupo G4 que apresentou média maior no diâmetro dos túbulos quando comparado ao G3. Concluíram que o tempo de condicionamento ácido não influencia na abertura dos túbulos dentinários para amostras do mesmo grupo. Quando diferentes tipos de ácidos são comparados, apenas o ácido fosfórico a 10% mostrou maior número de túbulos abertos do que o ácido fosfórico a 32% após 15 segundos de tratamento. A morfologia dentinária varia de acordo com o tipo de ácido utilizado no condicionamento dentinário.

### **2.1.2 - ÁCIDO CÍTRICO**

Sterret et al., em 1991, avaliaram a concentração ideal do ácido cítrico para desmineralizar a dentina. O objetivo foi determinar se há um pico de concentração do ácido cítrico acima do qual a desmineralização diminui. Utilizaram um dente bovino cortado longitudinalmente. A superfície vestibular foi polida com discos de sílica para produzir nova camada de *smear layer*. Sete orifícios de 3 mm de diâmetro foram feitos em fita adesiva (nº 471, 3M). A fita foi adaptada

perfeitamente sobre a superfície vestibular do dente. Soluções de ácido cítrico nas concentrações de 0% (pH 5.17); 0.01% (pH 3.37); 1% (pH 2.28); 8% (pH 1.80); 24% (pH 1.42%); 56% (pH 0.80) e 80% (pH 0.28) foram utilizadas. Dez microlitros de cada solução foram pipetados em um dos sete orifícios da fita e mantidos estáveis por um minuto. Uma bolinha de algodão foi então colocada no orifício a cada vinte segundos durante um minuto para absorver a solução. Todas as três bolinhas de algodão foram colocadas em 5ml de água destilada. A superfície dentinária foi novamente polida para que uma nova camada de dentina fosse formada. Todo procedimento foi repetido para cada concentração sucessivamente. As partes por milhão (ppm) de íons cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) dissolvidos em cada 5ml da solução foi determinada pelo Espectrofotômetro de Absorção Atômica. A média de  $\text{Ca}^{++}$  (ppm) foi calculada para cada concentração e pH da solução de ácido cítrico. Os resultados mostraram que não há diferença estatisticamente significativa entre as médias de  $\text{Ca}^{++}$  para as concentrações de 24% e 8%, embora houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de  $\text{Ca}^{++}$  (ppm) para a solução de ácido cítrico a 24% e as outras cinco soluções. A menor média de íons cálcio (ppm) ocorreu nas concentrações de 0,01%, seguida de 0%, 10% e 80%. Não houve diferença estatisticamente significativa entre estas quatro soluções. A solução de ácido cítrico a 24% e com pH de 1.42 resultou na maior média de  $\text{Ca}^{++}$  (ppm). Os resultados indicaram que concentrações elevadas de ácido cítrico podem não ser tão eficazes como soluções menos concentradas utilizadas com o mesmo objetivo.

Wen et al., em 1992, avaliaram o efeito de diferentes técnicas de aplicação do ácido cítrico em superfície dentinária radicular. Foram utilizados dez dentes humanos extraídos por problemas periodontais nos quais foram feitas fatias de dentina obtidas das raízes de cada um, com total de quarenta fatias. O ácido cítrico com pH 1 foi aplicado em trinta e duas das quarenta fatias por cinco minutos usando quatro diferentes técnicas: 1) imersão; 2) colocados com um algodão saturado sem esfregar; 3) colocado e polido com um algodão saturado; 4) aplicado com um pincel de pelo de camelo. As oito fatias restantes de dentina foram utilizadas como grupo controle, foram raspadas e não receberam condicionamento ácido. Após o tratamento as amostras foram observadas por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). As características das superfícies da dentina tratada foram avaliadas quanto ao grau de fibras colágenas expostas e quanto ao número de túbulos dentinários

expostos. Concluíram que a remoção da *smear layer* está diretamente relacionada ao condicionamento ácido.

Sterrett et al., em 1993, avaliaram em qual concentração o ácido cítrico produz um pico de desmineralização dentinária e se esta desmineralização é tempo dependente. Utilizaram quinze dentes bovinos que tiveram as superfícies vestibular e lingual preparadas. Oito depressões foram feitas em cada superfície plana de dentina com brocas esféricas nº 8. Os dentes foram secos com suaves jatos de ar. As concentrações de ácido cítrico foram 0%; 10%; 20%; 25%; 30%; 35%; 40% e 65% e seus respectivos pHs de 5.81; 1.95; 1.77; 1.62; 1.55; 1.46; 1.37 e 1.01. Três microlitros de cada solução de ácido cítrico foram pipetadas em cada uma das oito depressões das superfícies dentinárias. A solução foi deixada em repouso em cada depressão por 1 minuto. Bolinhas de algodão foram usadas para absorver a solução de ácido cítrico juntamente com qualquer cálcio dissolvido, trocando as bolinhas a cada 20 segundos por 1 minuto. As três bolinhas foram imersas em água destilada e todo o procedimento repetido por duas vezes. As partes por milhão de cálcio foram determinadas pelo Espectrofotômetro de Absorção Atômica. Pico de desmineralização dentinária em tempos de aplicação de 1, 2, e 3 minutos ocorreu nas concentrações de 25% (pH 1.62) e 30% (pH 1.55). A desmineralização dentinária mostrou-se tempo dependente para todas as concentrações das soluções de ácido cítrico e há uma concentração de ácido cítrico ideal é 25% acima da qual a desmineralização diminui.

Hennequin et al., em 1994, analisaram por meio de Microsonda Eletrônica o conteúdo de cálcio e fósforo da dentina radicular antes e após o tratamento com solução de ácido cítrico em diferentes concentrações. Dezoito incisivos inferiores humanos foram seccionados longitudinalmente e suas superfícies foram planificadas, seccionadas e polidas com discos abrasivos. Todas as amostras receberam banhos de água destilada a 55°C por 2 horas. As raízes foram divididas em três partes, terço apical, médio e cervical. A microsonda Camebax (THOMSON) foi usada. Os dentes foram divididos aleatoriamente em seis grupos de três elementos. O grupo 1: controle e os demais foram tratados com solução de ácido cítrico com pH de 1.7; 1.5; 1.3; 1.1; 0.8. O grupo controle foi colocado em banho com água e os demais grupos em banho com solução de ácido cítrico por 2 minutos. Durante o banho com ácido cítrico cada dente seccionado foi imerso individualmente assim, o íon liberado pode vir do esmalte, cimento, dentina coronária ou radicular e

não especificamente das áreas estudadas. Conseqüentemente, nenhuma medição tais como conteúdo iônico ou de pH pode ser conduzida pelas soluções resultantes do tratamento das amostras. Testes t pareados foram utilizados para comparar os valores médios, antes do tratamento, do conteúdo de fósforo e cálcio dos três terços da raiz. A perda percentual de cálcio, em relação ao cálcio inicial foi calculada para cada terço da raiz. Os valores resultantes foram submetidos a uma análise de variância e a diferença mínima significativa foi calculada para cada grupo. Considerando o conteúdo mineral antes do tratamento, as concentrações médias obtidas para o terço apical eram menores que as do terço cervical. O conteúdo mineral parece diminuir pelo longo eixo da raiz. A análise de variância (ANOVA) mostrou que a concentração de ácido cítrico teve efeito significativamente alto. Não houve nenhuma correlação entre a concentração de ácido cítrico e a localização radicular. As perdas de cálcio, ou seja, a desmineralização foi superior na solução de ácido cítrico com pH 1.1. A análise pelo Microscópio Eletrônico de Varredura mostrou que a superfície da dentina tratada com solução de ácido cítrico variou, diminuindo-se o pH teve a *smear layer* diminuída progressivamente e totalmente eliminada com soluções de pH 1.5. Concluíram que o pH da solução é mais importante para a desmineralização do que a concentração do ácido.

Gavini et al., em 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 de quatro caninos humanos, previamente pesados em balança analítica de precisão e posteriormente imersos nestas soluções testes por 15 minutos, 24, 48 e 72 horas. Os fragmentos foram removidos dos frascos contendo as soluções e novamente pesados. As pesagens iniciais e finais foram comparadas para estabelecer a taxa de desmineralização de acordo com o tempo de imersão de cada solução. O ácido cítrico 25% e a 50%, EDTA a 17% e soro fisiológico produziram uma média de desmineralização de 31,4%; 31,1%; 12,9%; 1,7% respectivamente. Os resultados do estudo demonstraram que os ácidos cítricos nas concentrações de 25% e 50% foram as soluções mais efetivas na desmineralização dos fragmentos de dentina.

Marshall et al., em 1997, utilizaram o Microscópio de Força Atômica para testar a hipótese de que a taxa de desmineralização dentinária é proporcional a concentração do ácido fosfórico e se o condicionamento ácido é independente da localização da dentina. Em adição, uma comparação foi feita entre as características

de condicionamento do ácido fosfórico e estudos recentes usando ácido cítrico com pH de 1.0, 2.15 e 3.4 para determinar se as características são dependentes do agente usado ou simplesmente do pH. Trinta molares humanos foram utilizados para preparar discos de dentina com 1mm de espessura e superfície exposta paralela à superfície oclusal. Os dentes foram seccionados longitudinalmente e cada metade foi polida com alumina de 0.05  $\mu\text{m}$ . As metades foram unidas com cianocrilato. Após seccionamento subsequente dos discos, a interface de união serviu como uma camada de referência para a superfície de dentina condicionada, Cada dente foi cortado em 1 ou 2 discos de 1.5 mm de espessura e 1 cm de diâmetro paralelo à superfície oclusal. Soluções de ácido fosfórico a 10% foram preparadas com valores de pH de 0.95; 2.0 e 4.0. Os discos de dentina foram condicionados com cada solução do ácido por trinta minutos. Após o ataque ácido, as amostras foram lavadas com água filtrada e purificada. A área central de cada disco, incluindo a porção da camada referência, foi examinada pelo Microscópio de Força Atômica. Os resultados do estudo foram comparados com estudos semelhantes usando ácido cítrico. A comparação demonstrou que o condicionamento com ácido cítrico é mais eficaz que o ácido fosfórico para o mesmo valor do pH, possivelmente como resultado da formação de citrato de cálcio em adição à simples dissolução. O condicionamento ácido aumenta com a diminuição do pH para ambos os ácidos. Não há diferença estatisticamente significativa na desmineralização da dentina superficial e profunda no condicionamento com ácido fosfórico para qualquer dos três pHs utilizados.

Marshall et al., em 1998, avaliaram se as taxas de desmineralização dentinária são proporcionais à concentração do ácido cítrico e o colapso da matriz desmineralizada por desidratação reversível por subsequente reidratação. Foram utilizados terceiros molares humanos preparados em discos de dentina com 1 mm de espessura e com superfícies expostas paralelas à superfície oclusal. Antes do preparo dos discos os dentes foram seccionados longitudinalmente e cada metade polida com lixa metalográfica de alumínio de 0.05  $\mu\text{m}$ . As metades foram unidas com cianocrilato, o que serviu como camada de referência para o condicionamento ácido dentinário. Discos de dentina (mínimo de  $n=3$  para cada concentração) foram condicionados com solução de ácido cítrico com grau de concentração de 2.5; 0.1; 0.0025; 0.0005 M. Estas concentrações têm valores de pH de 1.0; 2.15; 2.88 e 3.4 respectivamente. O condicionamento foi realizado por vários intervalos até completar o tempo de 30 minutos. As amostras foram avaliadas através do Microscópio de

Força Atômica que demonstrou que a dentina peritubular é rapidamente condicionada. Além disso, a taxa de desmineralização aumenta significativamente à medida que o pH do ácido diminui. Os autores afirmaram que mais estudos precisam ser realizados porque a taxa de condicionamento ácido aumenta em função da concentração do ácido cítrico. A recessão da dentina intertubular foi extremamente limitada para o ácido cítrico com pH 2.5 e 3.4. Os resultados indicaram também que o colapso da matriz desmineralizada é totalmente reconvertido pela reidratação.

Kwon e Imai, em 1999, examinaram os efeitos do cloreto férrico em associação ao ácido cítrico e do ácido fosfórico como agentes condicionantes sobre a morfologia da superfície dentária e na adesão da resina 4-META/MMATBB às superfícies condicionadas. O 4-META/MMA-TBB é um dos mais efetivos sistemas resinosos dentinários, nesta resina o condicionamento com ácido fosfórico para esmalte e condicionamento com ácido cítrico em associação com cloreto férrico para dentina é recomendado. Entretanto, o condicionamento separado e seletivo para esmalte e dentina torna-se mais difícil. Além disso, a mistura de dois agentes condicionantes é inevitável. Em tal situação, a mistura de dois agentes condicionantes pode ser efetiva no condicionamento de esmalte e dentina simultaneamente, o procedimento clínico pode ser simplificado. Sete agentes condicionantes foram selecionados: Ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3%; Ácido cítrico e fosfórico a 5% e cloreto férrico a 3%; ácido cítrico a 10% e ácido fosfórico a 3% e cloreto férrico a 35%; ácido cítrico a 5% e ácido fosfórico a 10% e cloreto férrico a 3%; ácido fosfórico a 10% e cloreto férrico a 3%; ácido fosfórico a 10% e ácido fosfórico a 35% foram preparados e usados no tratamento da superfície vestibular de incisivos bovinos devidamente acondicionados e congelados. O efeito dos agentes condicionantes na morfologia da superfície e sua adesão foram examinados por Microscópio Eletrônico de Varredura, Microscópio de Força Atômica e por Teste de Força de Tração. A mistura composta por 5% de ácido cítrico, 10% de ácido fosfórico e 3% de cloreto férrico podem condicionar dentina e esmalte-dentina e tornar a superfície favorável à adesão da resina 4 META/ MMA-TBB. Isto produziu maior força de união às superfícies dentárias quando comparado aos agentes condicionantes comercialmente recomendados. Este método de passo único ao contrário do método de dois passos que usualmente é necessário pode contribuir fortemente para procedimentos clínicos de união.

Akissue et al., em 2000, avaliaram a ação do ácido cítrico a 25% e EDTA a 17% na microdureza da dentina após a imersão de fragmentos dentinários nos respectivos agentes em diferentes períodos de tempo. Utilizaram quatro caninos superiores que não possuíam tratamento endodôntico prévio. Com o auxílio de cureta periodontal afiada, a superfície radicular foi raspada para que todos os resíduos de ligamento periodontal fossem eliminados, em seguida, as amostras foram lavadas em água corrente e mantidas em solução fisiológica durante 24 horas para hidratação. Após esse período, os dentes foram seccionados nas proximidades do terço médio, com discos de carborundum (Dedeco Corp.) produzindo-se fatias de 1 mm de espessura, num total de 05 lâminas. Cada fatia foi dividida em quatro partes, totalizando 80 fragmentos de dentina. Sessenta e cinco fragmentos foram escolhidos e inseridos em resina acrílica (Classico Ltd.), resultando em 5 blocos com 13 fragmentos de dentina. Após novo período de hidratação, os blocos foram imersos nas soluções a serem testadas: Grupo 1: solução fisiológica (controle); Grupo 2: solução de EDTA a 17% por 3 minutos; Grupo 3: solução de EDTA a 17% por 15 minutos; Grupo 4: solução de ácido cítrico a 25% por 3 minutos; Grupo 5: solução de ácido cítrico a 25% por 15 minutos. Os recipientes contendo os fragmentos de dentina e as soluções desmineralizantes foram mantidos em estufa bacteriológica a 37°C durante todo o experimento. Ao término de cada tempo experimental (3 e 15 minutos), cada conjunto foi lavado em água corrente, polido com pasta de alumina 0.1µm e reconduzido ao frasco original que continha a solução fisiológica; mantendo-se ali até o momento da análise. O teste de microdureza foi realizado em aparelho de dureza Carl-Zeiss com ponta diamantada para análise Knoop. Os comprimentos das marcas eram medidos em microscópio e os valores eram convertidos em números de dureza Knoop (KHN). Concluíram que o tempo de contato do agente desmineralizante interfere na sua capacidade descalcificante. O ácido cítrico mostrou-se mais efetivo que o EDTA a 17% independente da variável tempo de contato. O ácido cítrico a 25% atuando por quinze minutos proporcionou a maior redução na dureza dentinária.

Lorenzo et al. , em 2002, testaram em MEV as alterações morfológicas da dentina desmineralizada com ácido maléico e ácido cítrico com pH 0.7 e 1.4 em concentrações de 20% e 1%; 50% e 15% respectivamente. As amostras foram expostas a um ácido por 30 segundos e lavadas com água destilada. A análise ultra-morfológica do efeito do condicionamento dos dois diferentes ácidos testados por 30



segundos na superfície da dentina intertubular revelou eficiente ação na limpeza da *smear layer*. Apenas as amostras condicionadas com ácido maléico em baixa concentração, pH 1.4, mostraram poucas partículas residuais na dentina intertubular. O ácido maleico, pH 0.7, mostrou limpeza perfeita da dentina intertubular e não foram detectados remanescentes da *smear layer*. Isso sugere a capacidade do ácido maleico de limpar a superfície da dentina e que a desmineralização da dentina intertubular está relacionada ao pH do ácido utilizado. Os resultados mostraram que a habilidade do ácido cítrico dissolver a fase mineral da dentina é inversamente proporcional ao pH, portanto, o oposto do ácido maleico. As amostras que foram condicionadas com ácido cítrico com pH 1.4 tiveram maior profundidade de desmineralização do que as condicionadas com pH 0.7. O ácido cítrico mostrou três camadas diferentes: a primeira superficial, a segunda intermediária e uma terceira zona distinta contendo amplos espaços interfibrilares. Esta morfologia é a mesma observada quando se usa o ácido fosfórico. O ácido cítrico preserva a integridade das fibras colágenas desmineralizadas. Concluíram que as evidências morfológicas mostraram que tanto o ácido cítrico quanto o ácido maleico são viáveis para desmineralizar a superfície dentinária e os seus efeitos são diferentemente relacionados à concentração de hidrogênio. Os dois ácidos orgânicos formam uma complexa rede de fibras dentinárias, particularmente, nas áreas intertubular e peritubular, o que é de particular interesse quando considerado a formação da camada híbrida após a aplicação do sistema adesivo.

Haznedarouglu Faruk, em 2003, avaliou em MEV a eficácia de várias concentrações de ácido cítrico com valores de pH diferentes, na remoção da *smear layer* da superfície dentinária. Cinquenta dentes humanos foram divididos, aleatoriamente, em grupos controle e experimental, n=10. Foram feitos acessos endodônticos e os canais foram instrumentados e obturados e os terços apicais e coronários removidos. Os terços médios das raízes foram cortados longitudinalmente em dois segmentos iguais. Foram utilizadas soluções de ácido cítrico a 50% (pH 1.1 e 6.0); 25% (pH 1.5 e 6.0); 10% (pH 1.8 e 6.0) e 5% (pH 1.9 e 6.0) para o grupo experimental. Solução de hipoclorito de sódio a 2.5% para o primeiro grupo controle e água destilada para o segundo grupo controle. Nos grupos experimentais, metade das raízes foi imersa em 10cc de ácido cítrico em seu pH original e a outra metade foi submersa em solução tampão da mesma concentração. Após este procedimento todas as amostras foram lavadas, fixadas e desidratadas

em álcool etílico. As amostras foram então avaliadas por Microscópio Eletrônico de Varredura e os resultados revelaram que *smear layer* amorfa foi observada nas amostras do grupo controle que foram irrigadas com água destilada e hipoclorito. Observou-se redução significativa nos grupos experimentais. Não houve diferença estatisticamente significativa no que se refere à remoção da *smear layer* entre os grupos de ácido cítrico a 5% pH 1.9; a 10% pH 1.8, a 25% pH 1.5 e a 50% pH 1.1. Em contraste, houve diferença estatisticamente significativa entre soluções de ácido cítrico a 5% e 50% com pH tamponado de 6. Análise pareada de grupos com diferentes valores de pH mas com a mesma concentração revelou que concentrações inferiores (5% e 10%) com baixo valor de pH removeu a *smear layer* com mais eficiência, mas não foi detectada diferença significativa para altas concentrações (25% e 50%) entre alto e baixo valor de pH. Concluiu que o valor do pH é fator decisivo para a remoção da *smear layer* e que as concentrações de 10% e 25% com o pH de 1.1 são eficientes na remoção da mesma. As concentrações de 25% e 50% com pH 1.1 removeram de forma eficiente a *smear layer*. Concentrações baixas de ácido cítrico com pH original são tão efetivas quanto as concentrações mais altas. Acrescentou aos resultados o fácil manuseio do ácido cítrico e o baixo custo.

Machado-Silveiro et al., em 2004, utilizaram a espectrofotometria para avaliar *in vitro* a capacidade desmineralizante do ácido cítrico a 1% e 10% , citrato de sódio a 10% e EDTA a 17% após 5, 10 e 15 minutos de imersão da dentina radicular nas respectivas soluções. Obtiveram oito caninos superiores humanos, seccionaram suas coroas com disco diamantado na junção esmalte-cimento. Removeram o cimento do terço cervical com broca diamantada e ampliaram o canal com alargador Peeso. Obtiveram uma secção transversal de 3 mm do terço cervical de cada raiz que foi igualmente dividida em quatro amostras: S1, S2, S3 e S4. As amostras foram atribuídas a um dos quatro grupos experimentais (n=8) para o tratamento com os irrigantes. Grupo S1: ácido cítrico 1% - pH 2; Grupo S2: ácido cítrico 10% - pH 2; Grupo S3: citrato de sódio 10% - pH1 e Grupo S4: EDTA 17% - pH 8. Cada amostra sofreu três sucessivas imersões por 5 minutos em um recipiente com 5ml da solução. Assim, três extratos foram obtidos para cada amostra para a leitura dos níveis de cálcio. Dois mililitros de solução foram recolhidos a partir de todos os extratos. O espectrofotômetro (modelo AA475; Varian, Nova York, NY, EUA) foi calibrado com padrão de referência para as soluções. A eficácia do EDTA e ácido

cítrico (1 e 10%) para remover o cálcio diminuíram ao longo dos três períodos com diferenças estatisticamente significativas no caso do ácido cítrico ( $P < 0,001$ ). Um por cento de ácido cítrico mostrou maior eficácia na primeira imersão de 5 minutos, depois sua ação foi reduzida e manteve-se inalterada nos períodos de tempo posteriores. Dez por cento de ácido cítrico apresentou comportamento semelhante, embora removido o dobro de miligramas de cálcio em comparação com ácido cítrico a 1% durante o período do estudo. A quantidade de cálcio removida pelo citrato de sódio foi baixa quando comparada às outras soluções embora tenha havido um pequeno, mas, estatisticamente significativo aumento com o tempo de imersão. Não houve diferença significativa na atividade descalcificante de EDTA entre os três períodos de tempo. Comparação entre as substâncias mostrou diferenças estatisticamente significativas na quantidade de cálcio removida durante os três intervalos de tempo ( $P < 0,001$ ). Um por cento e 10% de ácido cítrico foram mais eficazes do que EDTA e citrato de sódio e 10% ácido cítrico foi mais eficaz que ácido cítrico a 1%. O citrato de sódio foi o agente estudado menos eficaz. A descalcificação foi mais eficaz nos primeiros 5 minutos nos caso do ácido cítrico a 1% e 10% e EDTA a 17%. À medida que aumenta a desmineralização o mesmo acontece com o conteúdo de material orgânico, o que pode reduzir a ação destes agentes. Concluíram que a substância mais eficaz na descalcificação foi ácido cítrico a 10%, seguido de ácido cítrico a 1%, EDTA a 17% e citrato de sódio a 10% e há diferença estatisticamente significativa para as quatro soluções em cada tempo de imersão avaliado.

Götze et al. , em 2005, avaliaram a ação do hipoclorito de sódio e do ácido cítrico, este último em diferentes concentrações, na remoção da *smear layer*. Vinte e oito molares decíduos humanos com coroas saudáveis foram selecionados. Inicialmente, os restos das raízes dos dentes foram cortados com discos diamantados (Microdent) e todo teto da câmara pulpar foi removido. Foram obtidos fatias de esmalte e dentina com discos de carboneto (KG Sorensen). Os dentes foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de acordo com a solução irrigante utilizada. Inicialmente, todos os grupos receberam irrigação com 5ml de hipoclorito de sódio a 1% por 15 segundos. Depois disso, cada grupo recebeu irrigação com 10 ml de ácido cítrico por 30 segundos nas seguintes concentrações 4%; 6%; 8%; 10%. Em seguida, realizou-se irrigação final com 10 ml de solução salina a 0,9% durante 30 segundos. Os discos foram então divididos para obtenção

de 56 hemi-discos. As amostras foram avaliadas por Microscópio Eletrônico de Varredura que mostrou fotomicrografias obtidas da região mais côncava de cada hemi-disco. Três examinadores calibrados atribuíram escores às imagens obtidas. Os resultados mostraram que todas as concentrações utilizadas foram capazes de remover a *smear layer* sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Todas as concentrações foram capazes de remover a *smear layer* e mudanças foram notadas na parede dentinária de algumas amostras quando as concentrações mais altas foram usadas. Estes efeitos foram observados em concentrações de ácido cítrico a 8% e 10%. Baseado nos resultados deste estudo onde baixas concentrações de ácido cítrico foram capazes de remover a *smear layer* sem causar danos à estrutura dentinária tais concentrações são mais indicadas. Todas as concentrações de ácido cítrico associadas ao hipoclorito de sódio testadas no presente estudo foram efetivas na remoção da *smear layer* coronária. Foi observado, porém, que o ácido cítrico a 8% e a 10% causam ampliação dos túbulos dentinários sugerindo danos à dentina peritubular e que o ácido cítrico a 4% apresentou um grande número de amostras com maior espessura da *smear layer*. Portanto, o uso do ácido cítrico a 6% em associação ao hipoclorito de sódio a 1.0% pode ser usado como solução irrigante em dentes decíduos.

Souza et al. , em 2005, compararam o efeito desmineralizante do EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) pH 7.4; EGTA (etileno glicol eterdiamino tetra-acético) pH 7.4; CDTA (ácido ciclo hexanodiamino tetra-acético) pH 7.4; Ácido Cítrico pH 1.0 e 7.4 e solução salina (controle) sobre a superfície radicular através da espectrometria de absorção atômica de massa (ICP-AES). Todas as soluções teste foram preparadas na concentração de 1%. Foram utilizados 48 dentes humanos unirradiculares instrumentados pela técnica *step back*. As raízes foram, aleatoriamente, divididas em seis grupos experimentais (n= 8) de acordo com a solução teste utilizada na irrigação final. Em cada grupo, 30 µL da solução teste foram pipetados no interior de cada canal radicular e mantidos estáveis por cinco minutos. Decorrido este período 5 µL da solução foram removidos do canal e depositados em frasco contendo 5 ml de água deionizada. A concentração de Ca<sup>+2</sup> (µg/ml) extraída das amostras foi determinada pela espectrometria de absorção de massa e os dados foram submetidos a análise estatística pelo teste de Kruskal-Wallis. O ácido cítrico em pH 1.0 foi a solução mais efetiva na remoção de íons cálcio comparativamente às demais soluções teste (p< 0.05). Nenhuma diferença

estatisticamente significativa foi observada entre as soluções de EDTA e EGTA. Ambos os quelantes removeram significativamente mais cálcio que o CDTA e o ácido cítrico em pH 7.4 ( $p < 0.05$ ). Não houve diferença significativa entre ácido cítrico pH 7.4 e a solução salina ( $p > 0.05$ ). O estudo concluiu que o ácido cítrico 1% com pH 1 foi a solução mais eficiente na remoção dos íons cálcio da dentina radicular. Concentrações baixas de EDTA e EGTA foram mais efetivas que CDTA; 1% de EDTA e 1% de EGTA tem efeito de desmineralização similar na dentina. O ácido cítrico em pH neutro não provoca mudança significativa no cálcio da dentina radicular.

De-Deus et al., em 2006, exploraram o potencial do Microscópio de Força Atômica (MFA) para o exame de alterações de microestrutura da superfície de dentina durante o processo de desmineralização. Sequências de imagens foram adquiridas para avaliar qualitativamente o efeito do EDTA, EDTAC (EDTA e Cetavilon) e ácido cítrico na dentina radicular. O desenvolvimento desta metodologia empregando microscopia em tempo real foi o principal objetivo da pesquisa. Selecionaram nove caninos superiores humanos, as amostras foram embutidas em um cilindro de resina epóxi (Arazyn 1,0; Ara química, SP, Brasil) para facilitar a manipulação e melhoria da preparação metalográfica. Foram feitas amostras de aproximadamente 5 mm de espessura utilizando-se discos em baixa velocidade (Isomet; Buhler, Ltd, Lake Bluff, NY, EUA). Procedimento metalográfico padrão foi empregado nas superfícies das secções pulpares, envolvendo desgaste e polimento, para preparar as superfícies para o processo experimental e produzir uma camada de esfregaço padronizada. A partir da porção central destas amostras de dentina, duas amostras (5 x 5 x 5 mm) foram preparados de forma simétrica para cada dente, totalizando 18 amostras de dentina. As 18 amostras foram divididas aleatoriamente em três grupos ( $n=6$ ) de acordo com o agente empregado: G1: (EDTA 17% - pH 7); G2: ( EDTAC 17% - pH 7.7); G3: ( ácido cítrico 10% - pH 1.4). O microscópio de força atômica Nanoscope IIIa (Veeco Instruments Inc., Santa Barbara, CA, EUA), equipado com uma célula de fluido foi usado para realizar a análise das amostras de dentina durante o ataque ácido. A fim de avaliar o processo de desmineralização, dois operadores observaram as imagens do MFA utilizando método duplo-cego. A quantidade de *smear layer* foi graduada entre 0 e 3 da seguinte forma: Escore 0: não há *smear layer* na parede da dentina, túbulos abertos; Escore 1: pouca *smear layer*, mais de 50% dos túbulos abertos; Escore 2: *smear layer* moderada com menos de

50% dos túbulos abertos; Escore 3: *smear layer* em grande quantidade, túbulos dentinários obliterados. O resultado afirmou que o ácido cítrico promoveu desmineralização mais rápida que o EDTA ou EDTAC. Entre as substâncias analisadas, EDTAC mostrou efeito mais fraco. A substância desmineralizante mais eficaz foi ácido cítrico a 10%, seguido de 17% de EDTA e EDTAC. A cinética de desmineralização promovida por 10% de ácido cítrico foi claramente mais rápida do que para as outras substâncias. O ácido cítrico causou danos fortes à matriz de dentina enquanto o EDTA e EDTAC teve pouco efeito. Concluíram que a possibilidade de observar alterações microscópicas na morfologia da dentina durante a desmineralização é crucial para compreensão do fenômeno e pode ajudar no estabelecimento de uma relação de tempo-efeito ideal para a aplicação clínica de substâncias quelantes.

De Deus et al., em 2007, analisaram quantitativamente e longitudinalmente a capacidade desmineralizante na dentina radicular do BioPure MTAD (Dentsply/Tulsa, Tulsa, OK) através de Microscopia de Força Atômica e análise de imagem digital. Soluções de EDTA a 17%, e ácido cítrico a 5% foram utilizados como soluções de referência para comparar os resultados. A hipótese nula testada foi de que não há nenhuma diferença na desmineralização da dentina irrigada com BioPure MTAD ou EDTA a 17% ou ácido cítrico a 5%. Nove molares foram selecionados. Discos de dentina de 3mm de espessura foram obtidos no terço médio da coroa usando uma serra de baixa velocidade (Isomet, Buhler, Ltd, Lake Bluff, NY). Um procedimento metalográfico padrão, papel de carborundum (SiC), foi usado na superfície da polpa do dente a fim de prepará-los para o processo experimental e para produzir uma camada de esfregaço padronizado. Neste ponto, as amostras foram divididas aleatoriamente em três grupos de acordo com o agente quelante utilizado como se segue (n = 3): G1: Biopure MTAD; G2: 17% de EDTA (pH 7,7) e G3: ácido cítrico a 5% (pH 2,0). No experimento de microscopia atômica um suporte especial permitiu a aplicação da solução desmineralizante sem remover a amostra de dentina do microscópio. A fase de amostra foi monitorada para adquirir automaticamente 16 campos de imagem em posições xy específicos de uma dada amostra para vários tempos de desmineralização acumulativos (0, 15, 30, 60, 180 e 300 segundos). A seqüência de aquisição completa da imagem era controlada por uma lupa estereoscópica (Carl Zeiss Vision) implementada abaixo do software Axio-Vision 4.5. A relação entre a área total de túbulos abertos e a área completa do

campo (AF) foi medida. A alteração da AF ao longo do tempo de desmineralização foi utilizada para quantificar o processo. As imagens iniciais (0 segundo) com a camada de esfregaço padronizada não foram analisadas, por causa do baixo contraste dos túbulos cobertos pela camada de esfregaço, o que impediu a sua discriminação. Posterior análise estatística foi realizada com os métodos de teste não paramétrico, utilizando o teste de Kruskal-Wallis, H-teste com correção de Bonferroni para comparar os valores de AF entre os grupos nos tempos experimentais correspondentes. O nível de significância foi estabelecido em  $p < 0,05$ . Os resultados mostraram que a hipótese nula testada foi claramente rejeitada. Biopure MTAD e ácido cítrico a 5% foram mais eficazes que o EDTA a 17% em todos os momentos. Concluíram que a cinética da desmineralização produzida tanto para o ácido cítrico a 5% quanto para o Biopure MTAD é claramente mais rápida que o EDTA a 17% e que o Microscópio de Força Atômica pode fornecer dados para comparar quantitativamente e longitudinalmente a capacidade desmineralizante das soluções.

Heredia et al., em 2007 avaliaram através de espectrometria de absorção atômica a capacidade descalcificante de soluções de EDTA a 15%, ácido cítrico a 15%, ácido fosfórico a 5% e hipoclorito de sódio a 2.5% em três períodos de imersão. Dez incisivos superiores humanos tiveram suas coroas removidas na junção esmalte-cimento. Duas fatias transversais de 2 mm foram obtidas do terço coronal de cada raiz. Cada fatia era então dividida em duas metades iguais obtendo um total de quatro amostras por raiz (S1, S2, S3 e S4). As amostras eram pesadas usando balança de precisão (A&D Engineering Inc., San Jose, CA, USA). As 40 amostras obtidas foram divididas em quatro grupos experimentais (n=10) para tratamento com diferentes soluções irrigantes. G1: EDTA 15% (pH 7); G2: ácido cítrico 15% (pH 1.6); G3: ácido fosfórico 5% (pH 1.02); G4: hipoclorito de sódio 2,5% (pH 11.9). Cada amostra foi imersa em 20 mL da solução irrigante por três períodos (T1: 5 min; T2: 10 min; T3: 15 min). A cada cinco minutos, 5 mL da solução irrigante foi removido utilizando pipeta graduada e armazenada em pote de vidro hermeticamente fechado. Três extratos foram obtidos de cada amostra e mensurados em espectrofotômetro de absorção atômica. A análise estatística revelou haver interação estatisticamente significativa entre a solução irrigante e o tempo de imersão na porcentagem de cálcio removida. Após 5 minutos de imersão na solução irrigante o EDTA 15% removeu maior quantidade de íons cálcio, seguido

de ácido cítrico 15%, ácido fosfórico 5% e hipoclorito de sódio 2,5%. A diferença na remoção de cálcio entre as soluções foi estatisticamente significativa exceto, entre EDTA 15% e ácido cítrico 15%. Após 10 minutos de imersão, não houve diferença estatística significativa na remoção de íons cálcio entre as soluções de EDTA e ácido cítrico, porém ela foi significativamente maior do que os íons cálcio removidos das soluções de hipoclorito e ácido fosfórico. O mesmo aconteceu após 15 minutos de imersão. Concluíram que as soluções de EDTA a 15%, ácido cítrico a 15% e ácido fosfórico a 5% produzem descalcificação da dentina radicular, principalmente nos 5 primeiros minutos de ação. A eficácia do EDTA a 15% e ácido cítrico a 15% foi significativamente maior do que a solução de ácido fosfórico nos três períodos de imersão estudados. A solução de hipoclorito de sódio a 2,5% foi capaz de remover pequena quantidade de cálcio da dentina radicular.

De Deus et al., em 2008, analisaram quantitativamente o poder quelante do EDTA, EDTAC, e 1% de ácido cítrico (AC) sobre a dentina radicular. Nove molares superiores humanos foram selecionados. Posteriormente, cada amostra foi montada em resina epoxi e discos de dentina de aproximadamente 3 milímetros de espessura foram cortadas na raiz cervical usando uma serra de baixa velocidade (Isomet, Buhler, Ltd., Lake Bluff, NY). As amostras foram aleatoriamente divididas em três grupos de acordo com o agente quelante utilizado, n=3: G1: EDTA 17% (pH 7,7); G2: EDTAC 17% (pH 7,7); G3: ácido cítrico 1% (pH 1,7). Os experimentos foram desenvolvidos em Microscópio Óptico (Carl Zeiss Vision GmbH, Hallbergmoos, Alemanha). Um suporte especial foi construído para permitir a aplicação da solução quelante sem remover a amostra de dentina do microscópio. Um mL da solução quelante foi aplicado com uma pipeta e deixada em contato com a amostra por cinco períodos de tempo, após o qual o processo quelante foi interrompido com 2 mL de água destilada. A amostra foi seca ao ar e retornada automaticamente para focar. O processo foi repetido por várias vezes durante a desmineralização (15, 30, 60, 180 e 300 segundos) revelando a evolução temporal completa do efeito de cada solução quelante sobre a superfície da dentina. A sequência completa de aquisição de imagem foi controlada por uma lupa estereoscópica especial (Carl Zeiss Vision) implementada sob o software AxioVision 4.5. Os resultados indicam que 1% de ácido cítrico foi o quelante mais eficaz para todos os tempos, exceto após 300 segundos, onde EDTA teve um efeito semelhante. O EDTA foi mais eficaz do que o EDTAC em todo tempo experimental. No geral, o quelante EDTAC foi menos eficaz.



Há uma tendência de saturação na capacidade desmineralizante de 1% de ácido cítrico, após 60 segundos. A cinética de desmineralização promovida por ácido cítrico 1% foi claramente mais rápida do que para ambos EDTAC e 17% de EDTA. Concluíram que ácido cítrico 1% foi o quelante mais eficaz. EDTA teve um desempenho intermediário entre 1% AC e EDTAC. No geral, o EDTAC foi o quelante menos eficaz.

Reis et al., em 2008, avaliaram através de Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura a ação quelante do ácido cítrico a 1% (pH 2.3); 5% (pH 2.0); 10%(pH 1.8) e EDTA a 17% (pH 7.7), usado como solução de referência, sobre a dentina. A análise das imagens forneceu dados quantitativos para comparar o poder quelante destas substâncias. Foram avaliados 16 molares superiores humanos que tiveram suas coroas removidas na linha da junção esmalte-cemento expondo a dentina cervical radicular. As amostras foram divididas em quatro grupos de acordo com a solução empregada, n=4. Grupo 1: EDTA a 17% usado como solução referência; Grupo 2: ácido cítrico a 1% (pH 2.3); Grupo 3: ácido cítrico a 5% (pH 2.0); Grupo 4: ácido cítrico a 10% (pH 1.8). Uma amostra de cada um dos grupos foi aleatoriamente selecionada para análise em MEV. As quatro amostras foram colocadas em um suporte especial que permitiu a aplicação da solução quelante sem removê-las do microscópio. Uma imagem para cada amostra foi capturada. Em seguida, o microscópio foi aberto e as soluções foram aplicadas na superfície de cada uma por 15 segundos. O condicionamento foi interrompido, as amostras lavadas com água destilada e secas. A câmara do microscópio foi fechada para outra observação. Novas imagens foram adquiridas. Esta sequência foi repetida para desmineralização por várias vezes (30, 60, 180 e 300 segundos). Três amostras de cada grupo foram utilizadas para análise por Microscópio de Força Atômica. Foi utilizado o mesmo protocolo usado na Microscopia Eletrônica de Varredura. Os resultados indicaram que as três soluções de ácido cítrico são mais eficientes do que a solução de EDTA a 17%, exceto após 30s quando não há diferença estatisticamente significativa entre 1% de ácido cítrico e EDTA a 17%. Comparando as soluções de ácido cítrico, o ácido cítrico a 1% foi menos efetivo em todos os tempos. O ácido cítrico a 5% e 10% teve efeito similar a 15 e 30 segundos. Após observações fornecidas pelas duas técnicas de microscopia utilizadas foi possível concluir que a concentração do ácido cítrico teve influência significativa na capacidade quelante. As três concentrações utilizadas foram eficientes na remoção

da smear layer e na desmineralização dentinária. A remoção de íons cálcio pelo ácido cítrico a 10% é proporcional ao tempo de desmineralização.

Amaral et al., em 2011 compararam através do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), quatro agentes desmineralizantes quanto a sua capacidade de remover a *smear layer* e abrir os túbulos dentinários. Selecionaram vinte e cinco dentes monorradiculares. As coroas foram seccionadas por corte transversal na junção esmalte-cimento em alta rotação sob-refrigeração. Em seguida cada raiz recebeu um segundo corte a 2 mm do primeiro em direção apical resultando em discos radiculares. Na superfície mesial e distal dos discos dois sulcos separados por uma distância de 4mm foram feitos com a mesma broca determinando uma área de dimensões de 2mmX4mm. Esta área foi raspada pelo mesmo operador com curetas Gracey (Hu – Friedy) e depois as metades foram seccionadas produzindo 50 fragmentos radiculares com uma área de sulco delimitada na qual cada agente desmineralizante foi aplicado. Os fragmentos radiculares foram divididos em cinco grupos de dez fragmentos de acordo com o agente desmineralizante aplicado: G1:(Solução de ácido cítrico 50% - pH 1); G2: ( tetraciclina hidrocloreada- 50mg/ml ); G3: ( Gel de EDTA 24%); G4: ( Solução de ácido fosfórico-37%); Grupo Controle: solução salina. Todos os agentes foram aplicados na superfície por 3 minutos com bolinha de algodão estéril trocada a cada 30 segundos. Após o tratamento os fragmentos dentários foram analisados em MEV. As superfícies radiculares foram examinadas pelas suas características morfológicas e presença de *smear layer*. Nenhuma das amostras do grupo do ácido cítrico apresentou *smear layer* e os túbulos dentinários foram totalmente expostos. O grupo da tetraciclina teve os todos os túbulos dentinários expostos, mas com presença de *smear layer* em oito amostras. No grupo do EDTA a maioria das amostras apresentou *smear layer* e não houve exposição dos túbulos dentinários em cinco deles. A comparação entre os quatro agentes, de acordo com a eficiência na remoção da *smear layer* e abertura dos túbulos dentinários, mostrou ser o ácido cítrico o mais efetivo seguido pela tetraciclina, ácido fosfórico, EDTA e solução salina.

Fontanari et al., em 2011 avaliaram através do Microscópio Eletrônico de Varredura a capacidade de três agentes condicionantes de remover a *smear layer* e expor a matriz orgânica dental da superfície radicular. Selecionaram 35 dentes humanos. Os dentes foram segmentados em dois cortes sendo um na junção esmalte-cimento e o outro, 4 mm abaixo desta. Cada segmento foi raspado e

seccionado em duas metades obtendo-se 140 amostras a partir das 70 amostras iniciais e divididas em grupos de acordo com agente condicionante aplicado e a condição do dente ter sido exposto ou não ao meio bucal. Os agentes condicionantes usados foram: ácido cítrico a 1% por 1 minuto; ácido cítrico a 25% por 3 minutos; EDTA a 24% por 3 minutos; cloridrato de tetraciclina 50mg/ml por 3 minutos e no grupo controle o condicionador foi a solução salina. A análise foi por MEV e baseada em seguintes escores, escore 1: ausência de *smear layer* e exposição de cimento, dentina e fibras colágenas ; escore 2: abertura parcial dos túbulos dentinários e exposição das fibras colágenas; escore 3: presença de *smear layer*; escore 4: *smear layer* formada pela dissolução química da superfície dentinária. Os resultados mostraram que nas amostras expostas ao ambiente oral o grupo controle teve escore 3, EDTA a 24% e o ácido cítrico a 25% escore 1 e alta frequência de escore 4, o cloridrato de tetraciclina e ácido cítrico a 1% escore 2. Nos grupos não expostos ao ambiente bucal tiveram para o grupo controle escore 3; o EDTA 24% e ácido cítrico a 25% em todas amostras com escore 4; cloridrato de tetraciclina e ácido cítrico a 1% escore 2. Concluíram que o EDTA a 24% e o ácido cítrico a 25% produziram hiper-desmineralização da superfície radicular, o cloridrato de tetraciclina e ácido cítrico a 1% apresentaram grande capacidade de remoção da *smear layer* quando comparados aos dois agentes condicionantes. Não houve diferença estatisticamente significativa nas amostras expostas ao meio bucal.

### **3 PROPOSIÇÃO**

Avaliar a influência da concentração e do tempo de aplicação do gel de ácido cítrico como agente condicionante sobre o selamento marginal em cavidades classe II em Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (Parecer nº 2320.060/2011).

### 4.2 PREPARO INICIAL DAS AMOSTRAS

Após a aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa 35 molares humanos hígidos permanentes foram obtidos do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia, UFJF. Os dentes foram previamente limpos com curetas periodontais tipo Gracey n.13/14 (Hu-Friedy; Hu-Friedy do Brasil, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e armazenados em potes plásticos hermeticamente fechados contendo água destilada, por seis meses, sob-refrigeração a - 4°C, sendo a água destilada trocada semanalmente.

Os ápices de todos os dentes foram selados com uma camada de adesivo epóxi (Araldite® de presa rápida – lote 0000007), e posicionados em uma matriz de silicona pesada em forma de caixa (2x2cm) nas quais os dentes foram fixados e vertidos em resina acrílica incolor quimicamente ativada (lote- 311180/ pó; 141211/ líquido), até a polimerização final. Todos os materiais foram manipulados de acordo com as especificações dos respectivos fabricantes.



Figura 1: Matriz de Silicona Pesada

### 4.3 PREPARO CAVITÁRIO

Cavidades classe II, tipo *slot* vertical, foram preparadas nas faces mesiais e distais com a ponta diamantada 4138 (KG SORENSEN Lote 16011) em turbina de alta rotação (ExtraTorque 605 KAVO) sob-refrigeração, e por um único operador. As cavidades possuíam as seguintes dimensões: 4mm de extensão vestibulo-lingual e 1,5mm de profundidade, ficando a margem cervical do preparo abaixo da junção esmalte-cimento. Para padronização da extensão vestibulo-lingual, foi utilizado um paquímetro digital (Digimatic Caliper Mitutoyo). Um modelo padrão foi confeccionado em resina acrílica (Duralay). Em seguida, este modelo foi fundido em níquel-cromo e utilizado como padrão para a aferição dos preparos cavitários. As pontas diamantadas foram trocadas a cada cinco preparos realizados.



FIGURA 2: Preparo cavitário classe II tipo slot vertical



Figura 3: Copyng Metálico



Figura 4: Broca diamantada 4138 (KG SORENSEN)

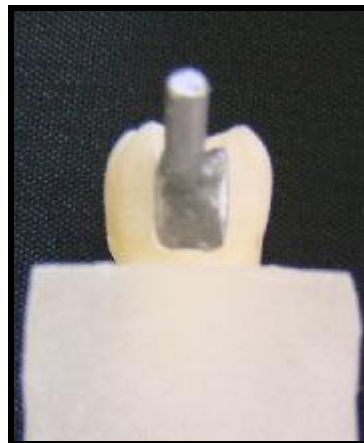


Figura 5: Aferição do Preparo com o Copyng

#### 4.4 PROCEDIMENTOS RESTAURADORES

Após a conclusão dos preparos cavitários, foi realizada profilaxia com pedra pomes, água e escova de Robinson em baixa rotação para remoção de quaisquer manchas e resíduos que poderiam impedir a adequada união dos sistemas adesivos. Após a profilaxia, as amostras foram lavadas com jato de ar/água por 30 segundos, para remoção de detritos e possíveis gotículas de óleo lubrificante provenientes da turbina de alta rotação.

As amostras foram, divididas aleatoriamente em sete grupos, de acordo com o agente condicionante, concentração e tempo de aplicação, sendo 5 elementos por grupo com dois preparos mesio – distal para cada elemento (n=10):

Os géis de ácido cítrico foram manipulados na Farmácia de Manipulação Cavalieri, CNPJ 20.789.756/0003-30, na cidade de Juiz de Fora, no estado de Minas Gerais- Brasil. Todos os géis de ácido cítrico tiveram seu pH estabelecido em 1.4.

O gel de ácido fosfórico a 35% utilizado foi o preconizado pelo sistema adesivo de três passos: Sistema adesivo *Scotchbond Multi Purpose* (3M/ESPE).

Os géis de ácido cítrico a foram aplicados na cavidade em tempos de 15 e 30 segundos para a dentina e 30 segundos para esmalte. O gel de ácido fosfórico a 37% foi aplicado na cavidade por 15 segundos em dentina e 30 segundos em esmalte. O tempo de aplicação foi medido com auxílio de um cronômetro.

Grupo	Agente Condicionante	Concentração	Tempo de Aplicação
GI	Ácido Cítrico	25%	30s
GII	Ácido Cítrico	35%	30s
GIII	Ácido Cítrico	10%	15s
GIV	Ácido Cítrico	10%	30s
GV	Ácido Fosfórico	35%	15s
GVI	Ácido Cítrico	35%	15s
GVII	Ácido Cítrico	25%	15s

Quadro 1: Grupos de estudo de acordo com o tempo de aplicação e concentração do agente condicionante

Após a aplicação dos Géis de Ácido Fosfórico e Ácido Cítrico nas concentrações e tempos de aplicação descritos acima, as cavidades foram lavadas e secas com suaves jatos de ar/água. Em seguida, após aplicação do *primer* e leve secagem para volatilização do solvente, o adesivo *Scotchbond Multi Purpose* (3M/ESPE- Lote N 188940) foi aplicado e fotopolimerizado por luz halógena de 600 mW/cm<sup>2</sup> (Optilux LE - Dabi Atlante) durante 20 segundos.





Figura 6: Apresentação comercial dos sistemas adesivos: Sistema adesivo Scotchbond Multi Purpose (3M/ESPE)

Para a confecção das restaurações foram utilizadas matrizes de poliéster individuais para molares (TDV® Lote 0124/0312), sendo escolhida a resina composta nanoparticulada Filtek Z350 (3M/ESPE Lote N142353), cor A3,5.



Figura 7: Apresentação Comercial da Resina Z 350 (3M/ ESPE)

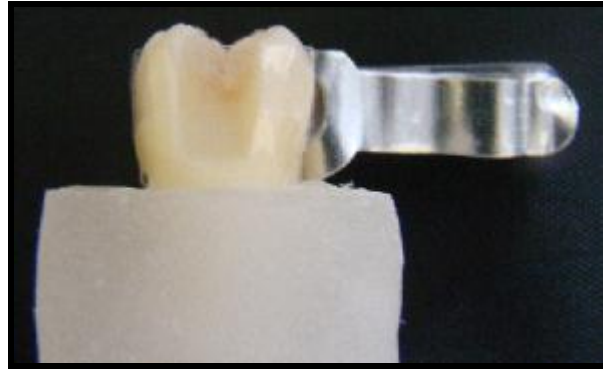


Figura 8: Matriz de Poliéster Posicionada

A técnica incremental foi utilizada, com incrementos oblíquos de 2 mm inseridos com espátula Suprafill Cyann, nº ½ (SSWhite Duflex), e fotopolimerizados por luz halógena de 600 mW/cm<sup>2</sup> (Optilux LE - Dabi Atlante) durante 20 segundos cada incremento (PEIXE; FIROOZMAND; ARAÚJO, 2006; RHADHIKA et al., 2010). Antes do procedimento restaurador de cada grupo, a intensidade de luz do fotopolimerizador foi monitorada através de um radiômetro (K&M Equipamentos Ltda) e todos os passos do procedimento restaurador que exigiram tempo exato foram controlados com auxílio de um cronômetro.

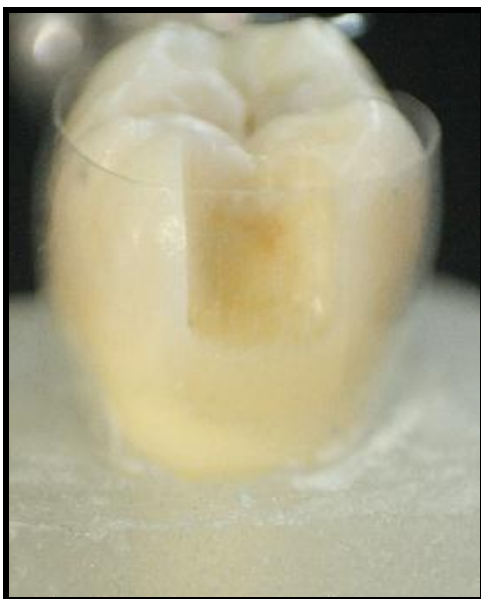


Figura 9: Incremento Horizontal



Figura 10: Incremento Oblíquo

Após esse procedimento, as amostras de todos os grupos ficaram imersas em água deionizada, em frascos coletores devidamente etiquetados em estufa bacteriológica a 37°C (Nova Ética®) até o início da termociclagem.

#### 4.5 CICLAGEM TÉRMICA

Todas as amostras foram submetidas a 5.000 ciclos térmicos em água destilada, com temperaturas de  $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $55^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , em banhos alternados de 30 segundos cada. A ciclagem térmica foi realizada no equipamento científico Nova Ética®.



FIGURA 11: MÁQUINA DE TERMOCICLAGEM

#### 4. 6 TESTES DE MICROINFILTRAÇÃO:

As amostras foram cobertas por duas camadas de esmalte de uso cosmético de cor vermelha (Revlon Lote 1271-77). A pintura tem a finalidade de impermeabilizar as áreas de testes, expondo unicamente a restauração e a interface de 1mm de estrutura dental, para se avaliar possíveis alterações nesta área. Posteriormente à impermeabilização e completa secagem da camada de esmalte, as amostras de cada grupo (grupos I, II, III, IV, V, VI e VII) foram imersos em solução de nitrato de prata amoniacal. Esta foi obtida pela dissolução de 25g de cristais nitrato de prata em 25ml de água deionizada, e, em seguida, hidróxido de amônio a 28% gotejado sobre a solução de nitrato de prata para titular a solução inicialmente transparente, passando para escura e até que se tornasse transparente novamente, transformando, assim, os íons de amônio em íons de prata diamina. A solução resultante, diluída em água deionizada até 50ml de solução final, garantindo a concentração final com pH 9,5 (TAY, PASHLEY E YOSHIYAMA, 2002) .

As amostras permaneceram na solução por 24 horas, em câmara escura de revelação radiográfica. Logo após, foram lavadas em água corrente por um minuto e imersas em solução reveladora Kodak (Lote 02895), sob luz fluorescente, por oito horas, para reduzir os íons prata diamina em grãos de prata metálica dentro dos espaços existentes ao longo de toda interface de união dente/restauração. As amostras foram então removidas e lavadas por 15 minutos em água corrente.



Figura 12: Amostra Impermeabilizada e Impregnada com Nitrato de Prata

#### 4.7 SECÇÃO DAS AMOSTRAS:

Foram realizados dois cortes no sentido mesio-distal passando pela restauração, obtendo a fatia intermediária com 1 mm de espessura, utilizando máquina IsoMet 1000 com disco diamantado. Este foi afiado a cada 5 amostras.



Figura 13: Máquina Isomet 1000

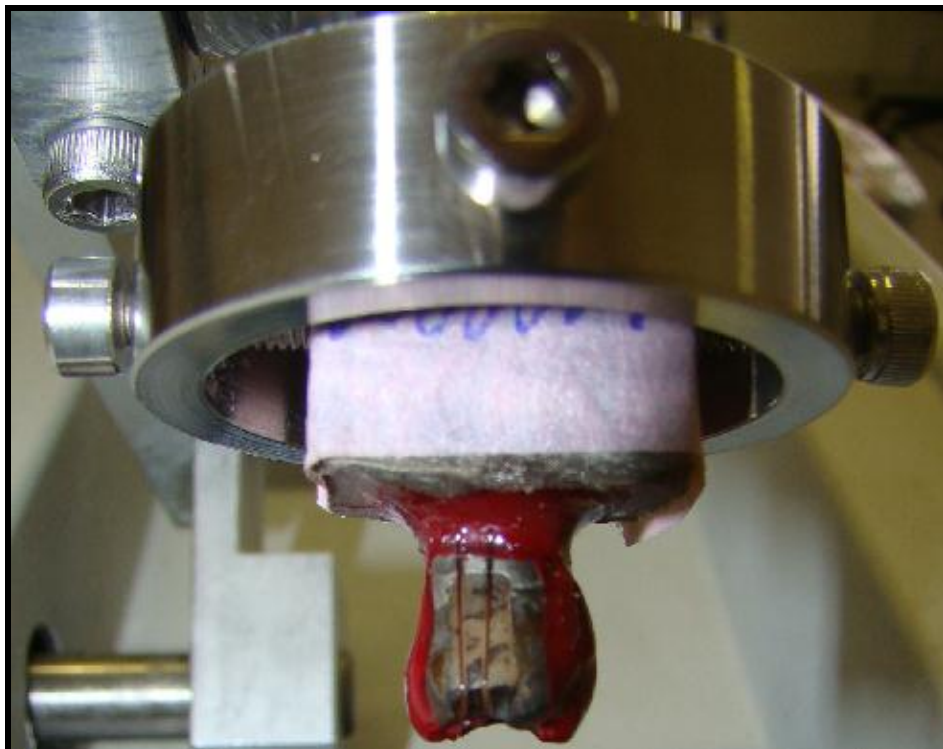


Figura 14: Corte Mesio- Distal

As fatias obtidas foram montadas em lâminas de vidro para microscópio (Precision Lote 20120328), fixadas com cera utilidade e devidamente identificadas. A fatia intermediária, com 1 mm de espessura, foi escolhida para análise em todas as amostras.



Figura 15: Amostra fixada em lâmina de vidro

A avaliação do grau médio de microinfiltração marginal foi realizada por três observadores devidamente calibrados para este fim que utilizaram Microscópio Óptico com lupa estereoscópica - Carl Zeiss (Stemi SV11), com 40X de aumento, considerando-se escores de 0 a 3.

<b>Escores</b>	<b>Penetração dos Corantes nas Margens</b>
0	Nenhuma penetração do corante
1	Penetração do corante em esmalte
2	Penetração do corante além da junção cimento-dentina
3	Penetração do Corante na parede pulpar

Quadro 2 : Escores utilizados para avaliação da microinfiltração marginal na parede cervical ( Radhika et al.,2010)

Neste estereomicroscópio foi acoplada câmera digital e microcomputador, sendo as amostras digitalizadas pelo software Axio Vision 4.7.



Figura15: Microscópio Óptico

Após análise pelo Microscópio Óptico foi feita análise do pior e melhor escore de cada grupo em Microscópio Eletrônico de Varredura para análise qualitativa e comprovação dos dados obtidos no Microscópio Óptico além de observar detalhes do efeito do ataque ácido na microinfiltração marginal na superfície das amostras, não identificados através da outra técnica de microscopia utilizada.

#### **4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA:**

Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística pelo teste não-paramétrico de Kruskal Wallis, e análise de Variância de Mann-Whitney, com índice de significância de 5%.

## 5 Resultados

Para tabulação e processamento dos resultados da pesquisa, foi utilizado o software SPSS 15.0 – *Statistical Package for Social Science*.

Os resultados obtidos nesta pesquisa tiveram influência de sete agentes condicionantes e de um evidenciador quanto à microinfiltração marginal de restaurações em preparos cavitários classe II, com término gengival em cimento utilizando a resina composta nanoparticulada Filtek Z350. Para facilitar a determinação do desempenho de cada material, as amostras foram divididas em sete grupos (I, II, III, IV, V, VI, VII) de acordo com o agente condicionante utilizado.

Grupos	Concentração	Tempo
<b>I- Ácido Cítrico</b>	25%	30s
<b>II- Ácido Cítrico</b>	35%	30s
<b>III - Ácido Cítrico</b>	10%	15s
<b>IV- Ácido Cítrico</b>	10%	30s
<b>V- Ácido Fosfórico</b>	35%	15s
<b>VI- Ácido Cítrico</b>	35%	15s
<b>VII- Ácido Cítrico</b>	25%	15s

Quadro 3-Divisão dos Grupos- Agentes condicionantes, tempo de aplicação e concentração

Foi construído um escore geral pela média das análises dos três observadores, que apresentou coeficiente Kappa 0,79, significativo ao nível de 5% com valor de  $p < 0,001$ .

A microinfiltração marginal apresentada pelos agentes condicionantes foi comprovada pelo teste de Kruskal-Wallis que apresentou uma significância de  $p = 0,015$ , havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos I, II e VI e os grupos III e VII entre os sete agentes condicionantes utilizados.

A análise das amostras condicionadas com os sete agentes condicionantes permitiu observar diferentes escores de penetração do evidenciador através da interface dente/restauração, mostrados na figura 14.





Escore 0



Escore 1



Escore 3



Escore 2

Figura 17: Escores de microinfiltração marginal – Evidenciador Nitrato de Prata amoniacal.

A microinfiltração marginal apresentada pelos agentes condicionantes foi comprovada pelo teste de Kruskal-Wallis que apresentou uma significância de  $p=0,015$  havendo, portanto, diferença estatisticamente significativa entre os grupos de AC 10% por 15s; AC 25% por 15s e AC 25% por 30s; AC 30% por 15 e 30s (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1: Teste de Kruskal-Wallis.

	<b>Agente Condicionante</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>
Escore	AC 25% (30s)	10	24,50
	AC 35% (30s)	10	22,55
	AC 10% (15s)	4	50,00
	AC 10% (30s)	10	37,55
	AF 35% (15s)	10	35,45
	AC 35% (15s)	9	22,83
	AC 25% (15s)	10	41,00
	Total	63	

Tabela 2: Teste Qui-Quadrado.

	<b>Escore</b>
Qui- Quadrado	15,860
Df	6
Significância Valor de p	,015

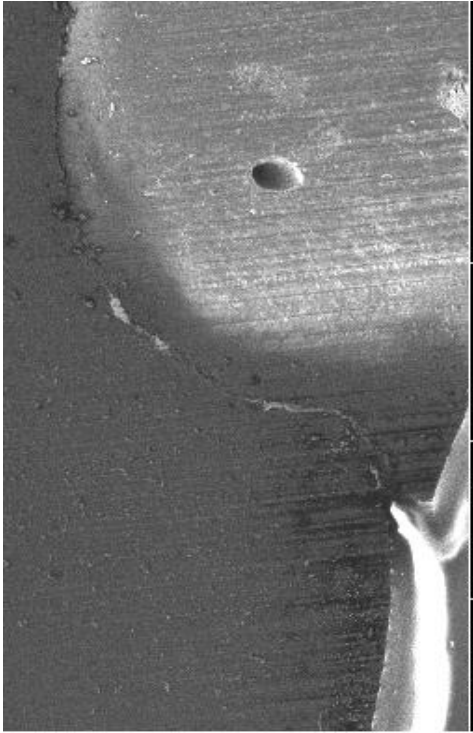
Os resultados obtidos nas condições experimentais estão apresentados na Tabela 3. Pode-se observar os escores relacionados à presença ou não de microinfiltração nas amostras avaliadas, além de correlacionar os sete agentes condicionantes, com suas respectivas concentrações e tempo de aplicação.

Tabela 3: Teste de Mann-Whitney

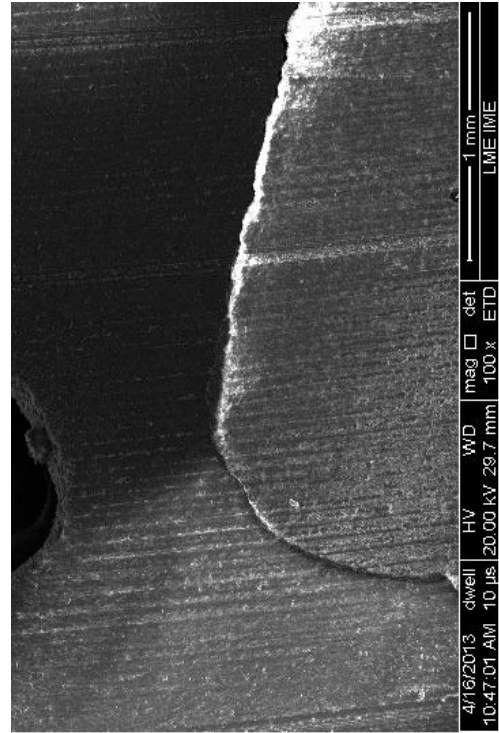
			Escore				Total
			0	1	2	3	
Grupo	AC 25% (30s)	N	3	1	4	2	10
		%	30,0%	10,0%	40,0%	20,0%	100,0%
	AC 35% (30s)	N	5	1	1	3	10
		%	50,0%	10,0%	10,0%	30,0%	100,0%
	AC 10% (15s)	N	0	0	0	4	4
		%	,0%	,0%	,0%	100,0%	100,0%
	AC 10% (30s)	N	0	1	4	5	10
		%	,0%	10,0%	40,0%	50,0%	100,0%
	AF 35% (15s)	N	1	1	3	5	10
		%	10,0%	10,0%	30,0%	50,0%	100,0%
	AC 35% (15s)	N	3	2	2	2	9
		%	33,3%	22,2%	22,2%	22,2%	100,0%
	AC 25% (15s)	N	0	0	4	6	10
		%	0%	0%	40,0%	60,0%	100,0%
Total	N		12	6	18	27	63
	%		19,0%	9,5%	28,6%	42,9%	100,0%

Pode-se observar que foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos do ácido cítrico a 25% por 30s e ácido cítrico a 35% por 15 e 30s para os grupos do ácido cítrico a 10% por 15 e 30s e ácido cítrico a 25% por 15s. Os três primeiros grupos tiveram escores menores e, portanto, menor microinfiltração marginal.

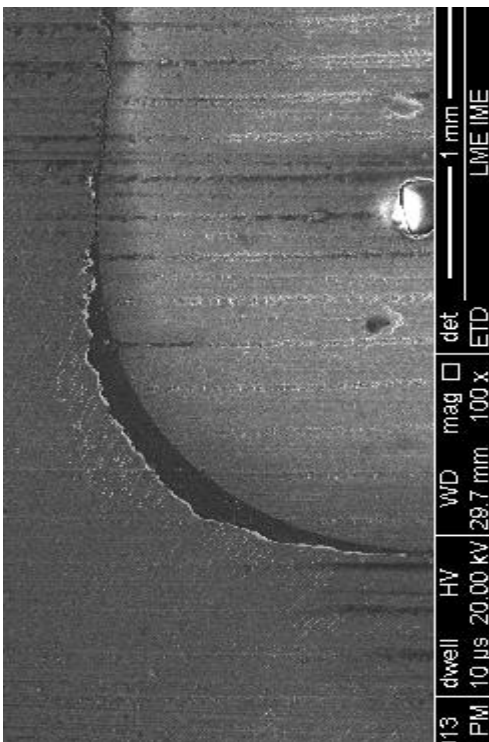
Após análise dos dados por Microscopia Óptica foi feita análise por Microscópio Eletrônico de Varredura para comprovação dos resultados conforme mostra a figura 15:



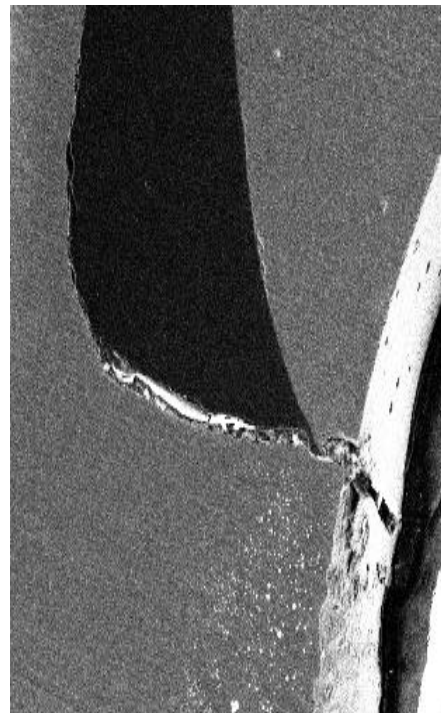
Escore 0



Escore 1



Escore 2



Escore 3

Figura 18: Imagens obtidas pelo MEV com aumento de 100X

## 6 DISCUSSÃO

O termo microinfiltração foi, inicialmente, definido como a passagem de produtos bacterianos, fluidos orais, moléculas ou íons através de fendas, oriundas do deficiente selamento dos materiais restauradores às margens cavitárias (KIDD, 1976). Assim, o selamento marginal de uma restauração é um dos fatores de maior importância para o sucesso clínico, especialmente quando a margem gengival é em dentina ou em cimento. A sua falha pode acarretar em reincidência de cáries dentárias e possível patologia pulpar (NAUFEL; SCHMITT; CHAVES, 2003).

Nakabayashi et al., em 1982, relataram que o mecanismo de adesão à dentina ocorre após realização de um pré-tratamento do substrato dentinário com substância ácida (ácido cítrico a 10% e cloreto férrico a 3%) por 10 a 30 segundos, para remover totalmente a *smear layer*; ou seja, trata-se de um mecanismo micromecânico no qual ocorre a impregnação e a polimerização dos monômeros nas fibras colágenas expostas pelo envolvimento das fibras colágenas com resina, por meio de desmineralização superficial da dentina, criando assim a camada híbrida.

A maioria dos métodos de adesão dentinária depende da desmineralização desta superfície para remover a *smear layer* e estabelecer microporos que são penetrados pelos agentes adesivos criando a camada híbrida, formada pela dentina desmineralizada em íntimo contato com o polímero do adesivo. (TOLEDANO et al., 2005).

A aplicação do ácido promove a desmineralização superficial da dentina, expõe as fibras colágenas e desoblitera os túbulos dentinários o que aumenta a permeabilidade tecidual e possibilita a infiltração e subsequentemente a polimerização dos monômeros resinosos. (VAN-MEERBEEK et al., 2003).

Muitos fatores influenciam o efeito do condicionamento ácido na superfície dentária, como o tipo do ácido, sua concentração, a técnica utilizada e o tempo de aplicação (MARSHALL et al., 1997). Em estudo recente Amaral et al. (2011) encontraram diferentes efeitos do condicionamento ácido sobre a superfície dentária,

utilizando três diferentes substâncias: ácido cítrico a 50%, ácido fosfórico a 37%, EDTA a 24% e solução salina concluindo que o ácido cítrico é o agente mais efetivo na remoção da *smear layer* e abertura dos túbulos dentinários seguido pela tetraciclina, ácido fosfórico, EDTA e solução salina.

A maioria dos sistemas adesivos utiliza o ácido fosfórico de 30 a 40% para preparar a superfície dentinária e em seguida receber a aplicação dos componentes adesivos. Quando a dentina é condicionada com ácido fosfórico nestas concentrações a *smear layer* é totalmente removida e a superfície da dentina é modificada morfológicamente Sardella et al. (2005), Lenzi et al. (2012).

Além do ácido fosfórico, o ácido cítrico em diferentes concentrações também tem sido testado. As vantagens da aplicação do ácido cítrico foram citadas por Gavini et al., em 1995 e descritas por outros autores como sendo: formação do citrato de cálcio em detrimento unicamente de sua dissolução (MARSHALL et al., 1997), o ácido cítrico preserva a integridade das fibras colágenas desmineralizadas e forma uma complexa rede de fibras dentinárias, particularmente, nas áreas intertubular e peritubular, o que é de particular interesse quando considerado a formação da camada híbrida após a aplicação do sistema adesivo (Lorenzo et al., 2002), fácil manuseio e baixo custo (HASNEDAROGLU FARUK, 2003). Mediante às vantagens do ácido cítrico enumeradas pelos autores supracitados o presente estudo avaliou a ação do ácido cítrico em diferentes concentrações e tempos de aplicação na microinfiltração marginal, juntamente com o ácido fosfórico, nas concentrações e tempos de aplicação usualmente preconizados para este ácido.

As concentrações dos ácidos utilizadas neste estudo são as concentrações mais comumente utilizadas para estes agentes condicionantes. As concentrações do ácido cítrico de 10, 25 e 35% corroboram com os estudos de Sterret et al., 1993; Gavini et al. (2000); Bevilacqua et al. (2000); Lorenzo et al. (2002); Hasnedaroglu Faruk. (2003); Machado-Silveiro et al. (2004); De Deus et al. (2006); Reis et al. (2008) que provaram ser o ácido cítrico nestas concentrações mais eficiente na remoção da *smear layer* e abertura dos túbulos dentinários.

O ácido cítrico tem se mostrado efetivo em valores de pH entre 0.8-1.9. Haznedaroglu (2003) estudou o efeito da variação do pH na ação desmineralizante deste ácido. As soluções de ácido cítrico a 5, 10 e 50% tiveram seus valores de pH

comparados com soluções de ácido cítrico na mesma concentração com pH 6. O autor concluiu que soluções com pH entre 1.1 e 1.9 foram as mais efetivas. Este resultado está de acordo com Hennequin (1994), Breschi et al. (2002), Souza et al. (2005), Gotze et al. (2005), De Deus et al. (2006), Reis et al. (2008) e justifica a escolha do pH 1.4 para o presente estudo.

O presente estudo indica que a concentração do ácido cítrico teve influência na sua ação desmineralizante. Em concentrações mais altas do mesmo, mas com o mesmo valor de pH, o efeito é maior do que em concentrações mais baixas. Ao analisar separadamente os agentes condicionantes utilizados, em presença do nitrato de prata amoniacal, o ácido cítrico a 35% por um tempo de aplicação de trinta segundos apresentou menor microinfiltração marginal em relação aos outros seis agentes condicionantes analisados. Este resultado está de acordo com os encontrados por Sterret et al. (1993); Marshall et al. (1998); Gavini (1995); Reis et al. (2008).

O tempo de contato do agente condicionante interfere em sua capacidade desmineralizante. Quando comparado aos tempos de aplicação de 15 e 30 segundos do ácido cítrico nota-se que nas mesmas concentrações, 10, 25 e 35%, quanto maior o tempo de contato do agente desmineralizante com a superfície dentinária menor foi a penetração do corante. A atividade do ácido cítrico mostrou-se tempo-dependente. Este resultado está de acordo com os obtidos por Sterret et al. (1993), Gavini et al. (1995), Akissue et al. (2000), Machado-Silveiro et al. (2004), De Deus et al. (2007), Reis et al. (2008).

Quando comparado ao ácido fosfórico a 35% por 15s o ácido cítrico nas concentrações de 25% por 30s e 35% por 15 e 30s tiveram melhor efeito. Este resultado vão ao encontro dos encontrados por Marshall et al. (1997) que compararam o ácido fosfórico e o ácido cítrico com valores de pH semelhantes e concluíram que o ácido cítrico tem maior poder desmineralizante, possivelmente devido a capacidade do ácido cítrico de formar citrato de cálcio ao invés de somente destruí-lo como faz o ácido fosfórico. Corroborando Amaral et al. (2010), Perez-Heredia et al. (2007) que também compararam os dois ácidos e tiveram resultados semelhantes.

No presente estudo os géis de ácido cítrico a 25% e 35% por tempos de aplicação de 30s tiveram efeitos semelhantes o que corrobora com o estudo de Gavini et al. (2000) que mostrou não haver diferença estatisticamente significativa quanto a ação desmineralizante entre as concentrações de 25% a 50%, sendo que biologicamente o emprego de soluções com concentrações menores mostra-se mais vantajoso.

Baseando-se nos resultados obtidos por este estudo após observação das amostras em Microscopia Óptica e em Microscopia Eletrônica de Varredura, o ácido cítrico mostrou-se eficiente como agente condicionante nas restaurações classe II de resina composta podendo, portanto, ser um possível substituto do ácido fosfórico para a mesma função.



## 7 CONCLUSÕES

Diante da metodologia empregada e análise estatística dos resultados, foi concluído que:

- A ação do ácido cítrico é tempo dependente para as mesmas concentrações. Sendo que não há diferença estatisticamente significativa para o ácido cítrico nas concentrações de 25 e 35% para o tempo de aplicação de 30 segundos.
- Quando comparado ao Ácido Fosfórico, o Ácido Cítrico nas concentrações de 25 e 35% em tempos de aplicação de 30 segundos teve menor frequência da penetração do corante o que torna este ácido um possível substituto para o ácido fosfórico a 35%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKISSUE E.; GAVINI G. Effect of the 25% citric acid solution and 17% EDTA solution in the dentinal hardness. **Endod.** v.2, n.2. 2000.

AL-EHAIDEB A, MOHAMMED H. Shear bond strength of “one 2. bottle” dentin adhesives. **J Prosthet Dent.** v.84, n.4, p. 408-12, 2000.

AMARAL G. N; REZENDE R.; HIRATA F.; RODRIGUES M. G. Comparasion among four commonly used demineralizing agentes for root conditioning. A scanning electron microscopy. **J Appl Oral Sci.** v.19, n. 5, p. 469-475. 2011

AYAD MF. Effects of rotary instrumentation and different etchants on removal of smear layer on human dentin. **J Prosthet Dent.** v.85, n.1, p.67-72, 2001

BEVILACQUA F. M.; PORTO NETO; SIZENANDO T.; MAGNANI R. Estudo do Condicionamento ácido da dentina humana: Avaliação pelo Microscópio Eletrônico de Varredura. **Rev. Odontol.Unesp.** v.29, n.1, p. 129-144. 2000.

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

CAMPOS A.E.; AMARAL A. F. A.; PORTO NETO T. S. Avaliação da influência do tempo de condicionamento dentinário sobre a microinfiltração marginal em cavidades classe V com resina composta e diferentes sistemas adesivos. **Rev. Odont. Unesp.** v. 31, n. 2, p. 231-243. 2002.

CHOW, L. C.; BROWN, W. E. Phosphoric acid conditioning of teeth for pit and fissure selants. **J Dent Res.** v. 52, n. 5, p.1158. 1973.

COSTA, J. F et al. In vitro microleakage evaluation of three adhesive systems. **Cienc. Odontol. Bras.** v.6, n.1, p.60-6. 2005.

DAVIDSON C. L.; ABDALLA A.; DE GEE A. J. An investigation into the quality of dentin bonding systems for accomplishing a durable bond. **J Oral Rehabil.** v. 20, n. 3, p. 291-300. 1993.

DE-DEUS G, PACIORNIK S, PINHO MAURICIO M, PRIOLI R. Real-time atomic force microscopy of root dentin during demineralization when subjected to chelating agents. **Int Endod J** v. 39, p.683-92. 2006

DE-DEUS G, REIS CM, FIDEL RA, FIDEL SR, PACIORNIK S. Co-site digital optical microscopy and image analysis: an approach to evaluate the process of dentin demineralisation. **Int Endod J.** v. 40, p. 441-52. 2007.

DE-DEUS G, REIS CM, FIDEL RA, FIDEL SR, PACIORNIK S. Longitudinal and quantitative evaluation of dentin desmineralization when subjected to EDTA, EDTAC,

and citric acid: co-site digital optical microscopy study. **Oral Radiol Endod.** V.105, p.391-7. 2008.

FONTANARI, L.A.; PINTO, S.C.S.; CAVASSIM, R.; SPIN NETO, R.; ISHI, E.P.; SAMPAIO, J.E.C..Influence of dental exposure to oral environment on smear layer removal and collagen exhibition after using different conditioning agents. **Braz Dent J**, v.22, n.6, p. 479-485, 2011.

FUSAYAMA T.; NAKAMURA M.; KUROSAKI N.; IWAKU M. Non-Pressure Adhesion of a New Adhesive Restorative Resin. **J DENT RES.** v. 58, n.4, p.1364-1370. 1979.

GARONE NETO, N.; GARONE FILHO, W. Estudo do esmalte fraturado e desgastado, com e sem ataque ácido, através do microscópio eletrônico de varredura, com vistas a maior possibilidade de retenção. **Ver Paul Odont.** v.30, p. 190-6, 1976.

GAVINI G.; ESTRELA C., SANTOS M.; FELIPPE JR. Análise in vitro do efeito desmineralizador de algumas soluções irrigadoras de uso endodôntico, em diferentes períodos de tempo. **Rev Odont Unacid.** V. 7, n. 2, p. 83-9. 1995.

GOTZE, R. G.; CUNHA G. S. C.; PRIMO G. S. L.; MAIA C. L. Effect of the sodium hypochlorite and citric acid association on smear layer removal of primary molars. **Braz Oral Res.** v 19, n 4, p. 261-6. 2005.

HARADA N.; YAMADA T.; INOKOSHI S.; TAGAMI J. Tensile bond strengths and interfaces of tem dentin bonding systems. **J Med Dent Sci.** v. 45, n. 2, p. 85-96. 1998.

HAZNEDAROGLU F. Efficacy of various concentrations of citric acid at different pH values for smear layer removal. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v 96, n 3, p 340-4. 2003.

HASHIMOTO M.; OHNO H.; ENDO K.; KAGA M.; SANO H.; OGUCHI H.; The effect of hibrid layer thickness on bond strength: desmineralized dentin zone of hybrid layer. **Dent Mat** v 16, p. 406-11. 2000.

HENNEQUIN M.; PAJOT J.; AVIGNANT D. Effects of different pH values of citric acid solutions on the calcium and phosphorus contents of human root dentin. **J Endodontics.** v. 20, n.11, p. 551-4. 1994.

HEREDIA P. M.; LUQUE C. M. F.; RODRIGUEZ M. P. G.; PEINADO F. I. M.; LOPES S. G. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 25% sodium hipochlorite on root canal dentine. **Int. End. Journal.** v. 41, p. 418-423. 2008.

KIDD, E.A. Microleakage: a review. **J. Dent.** v.4, n.5, p.199-206. 1976

KWON T. Y.; IMAI Y. Effect of ferric chloride/citric acid/phosphoric acid conditioner on adhesion of 4-META/MMA-TBB resin to the tooth. **Dent. Mater. Journal.** v. 18, n. 2, p. 184-93. 1999.

LORENZO B.; PIETRO G.; GIOVANNI M.; MIRELLA F.; TOM H.; EIVAN S.; High resolution SEM evaluation of dentin etched with maleic and citric acid. **Dent Mater.** v. 18, n. 1, p.26-35. 2002.

MACHADO-SILVEIRO F. L.; GONZALES-LOPES S.; GONZALES-RODRIGUES. Descalcification of root canal dentine by citric acid, EDTA and sodium citrate. **Int. End. Journal.** v. 37, p. 365-369. 2004

MARSHALL G W JR. Dentin: microstructure and characterization. **Quintessence Int.** v. 24, n. 9, p. 606-17. 1993.

MARSHALL G. W. JR.; Norimichi I.; I-Chien W.M. ; Mehdi B. J. H. ; Kinney J. T. ;Sally J. Dentin desmineralization: Effects of dentin depth, pH and different acids. **Dent Mater.** V. 13, n. 5, p.338-43. 1997

MARSHALL G. W. JR.; WU-MAGIDI I.C.; WATANABE L.G.; INAI N.; BALOOCH M.; KINNEY J.H.; MARSHALL S.J. Effect of citric acid concentration on dentin demineralization, dehydration, and rehydration: atomic force microscopy study. **J Biomed Mater Res.**, v.42, n. 4, p. 500-7. 1998.

NAKABAYASHI N, KOJIMA K, MASUHARA E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res.** v. 16, n. 3, p.265-73. 1982.

NAKABAYASHI N; PASHLEY D. H. Hybridization of dental hard tissues . **Quintessence Int.** v.1, n.1, p.37-56. 2000.

NUNES, M.C.P.; FRANCO,E.B.; PEREIRA, J.C. Microinfiltração marginal: análise crítica da metodologia. **Salusvita.** v.24, n.3, p. 469-485. 2005.

NUNES MF, SWIFT EJ, PERDIGÃO J. Effects of demineralization depth on microtensile bond strength to human dentin. **J Adhes Dent.** V 3, n 2, p. 137-43. 2001

NAUFEL, F. S.; SCHMITT, V. L.; CHAVES, L. P. Avaliação *in vitro* da microinfiltração marginal em cavidades classe II restauradas com resina composta. Efeito de diferentes sistemas adesivos. **Arq. Ciênc, Saúde.** v.7, n.2, p.145-8. 2003.

PASHLEY D. H.; CIUCCHI B.; SANO H.; HORNER J. A.; Permeability of dentin to adhesive agents. **Quintessence Int,** v. 24, n. 9, p. 618-31. 1993.

PEIXE, S.; FIROOZMAND, L.M.; ARAÚJO, R.M. Avaliação da utilização dos adesivos dentinários na microinfiltração marginal de resinas compostas. **Rev. Odonto Ciência.** v.21, n.51. p.9-16. 2006.

PIMENTA A. R.; PENIDO R. V. C.; CRUZ R. A.; ALVES B. J. Morfology of dentino n primary molars after the aplication of phosphoric acid under diferente conditions. **Braz. Oral. Res.** v. 24, n. 3, p. 323-8. 2010.

POLSON, A. M.; FREDERICK, G. T.; LADENHEIM, S.; HANES, P.J. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. **J. Periodontol.** v. 55, p.443, 1984.

PRATI C.; PASHLEY D. H.; MONTANARI G. Hydrostatic intrapulpal pressure and bond strength of bonding systems. **Dent Mat.** v. 7, n. 1, p. 54-58. 1991.

RADHIKA, M. et al. Effect of different placement techniques on marginal microleakage of deep class-II cavities restored with two composite resin formulations. **J. Conserv. Dent.** v.13, n.1, p.9-15. 2010.

REIS C.; DE-DEUS G.; LEAL F.; AZEVEDO E.; COUTINHO FILHO T.; PACIORNICK S. Strong effect on dentin after the use of high concentrations of citric acid: Na assessment with co-site optical microscopy and ESEM. **Dent Mater.**; v.24, n.12 , p. 1608-15. 2008.

SARDELLA TN, CASTRO FL, SANABE ME, HEBLING J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. **J Dent** : v. 33. N.5, p. 355-62.2005.

SHASHIKIRAN N.D.; GUNDA S.; SUBBA REDDY V. V. Comparison of Resin-Dentine interface in primary and permanent teeth for three different durations of dentine etching. **J Indian Soc Prev Dent.** v. 20, n. 4, p.124-31. 2002.

SILVA E SOUZA JUNIOR, M. H.; CARVALHO, R. M.; MONDELLI, R.F. L. **Odontologia Estética: fundamentos e aplicações clínicas – restaurações com resina composta.** São Paulo: Ed. Santos, p. 171. 2000.

SOUZA G. M. S.; SILVA L. S.; Desmineralization effect of EDTA, EGTA, CDTA and citric acid on root dentin: comparative study. **Braz Oral Res.** v. 19, n. 3, p. 188-92. 2005.

STERRETT J. D.; DELANEY B.; RIZKALLA A.; HAWKINS C.H. Optimal citric acid concentration for dentinal demineralization. **Quintessence Int.** v. 22, n. 5, p. 371-75. 1991.

STERRETT J.D.; BANKEY T.; MURPHY H.J. Dentin desmineralization: The effects of citric acid concentrations and application time. **J Clin Periodont.** v. 20, p. 366-70. 1993.

SWIFT E. J. JR.; PERDIGÃO J.; HEYMANN H. O. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art. **Quintessence Int.** v. 26, n. 2, p. 95-110. 1995.

TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; YOSHIYAMA, M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. **J. Dent. Res.** v.81, n..7, p.472-476. 2002.

TITLEY K.; CHERNECKY R.; MARIC B.; SMITH D. Penetration of a dentin bonding agent into dentin. **Am J Dent.** v. 7, n. 4, p. 618-31. 1994.

TOLEDANO M.; OSORIO R.; OSORIO E.; PRATI C.; CARVALHO M. R. Microhardness of acid-treated and resin infiltrated human dentine. **Journal of Dentistry**. v.33, p. 349-54. 2005.

TRUJILLO JR. Avaliação da biocompatibilidade do ácido cítrico em diferentes concentrações- teste edemogênico. **Salusvita**. v. 22, n. 2, p. 31-40. 2003.

VAN MEERBEEK, B. Adesion to enamel and dentin. Current status and future challenges. **Oper Dent**. v. 28, n. 3, p. 215-235. 2003

WALSHAW, P. R.; MCCOMB. D. SEM evaluation of the resin-dentin interface with proprietary bonding agents in human subjects. **J. Den. Res**. v. 73, n.5, p. 1079-87. 1996.

WEN CR, CAFFESSE RG, MORRISON EC, NASJLETI CE, PARIKH UK. In vitro effects of citric acid application techniques on dentin surfaces. **J Periodontol**. V. 63, n. 11, p. 883-889. 1992.

# ANEXOS