



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**



**LUCAS AMARAL FONTANARI**

**BIOMODIFICAÇÃO RADICULAR EM  
DENTES EXPOSTOS E NÃO  
EXPOSTOS À PLACA BACTERIANA**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**



**LUCAS AMARAL FONTANARI**

**BIOMODIFICAÇÃO RADICULAR EM  
DENTES EXPOSTOS E NÃO EXPOSTOS À  
PLACA BACTERIANA**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA- ÁREA DE PERIODONTIA, DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA PARA O TÍTULO DE MESTRE EM ODONTOLOGIA.

**Orientador:** Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

Araraquara  
2010

**Fontanari, Lucas Amaral**

**Biomodificação radicular em dentes expostos e não expostos à placa bacteriana / Lucas Amaral Fontanari. – Araraquara: [s.n.], 2010.**

**90 f. ; 30 cm.**

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia

Orientador : Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

1. Camada de esfregaço 2. Microscopia eletrônica de varredura  
3. Ácido cítrico I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB-8/5646

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

**LUCAS AMARAL FONTANARI**

**BIOMODIFICAÇÃO RADICULAR EM DENTES EXPOSTOS E  
NÃO EXPOSTOS À PLACA BACTERIANA**

**COMISSÃO JULGADORA**

**DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE**

Presidente e Orientador .....Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

2º Examinador..... Prof. Dra. SILVANA REGINA PEREZ ORRICO

3º Examinador ..... Prof.Dra. LETICIA HELENA THEODORO

Araraquara, 18 de Março de 2010.

## Dados Curriculares

### LUCAS AMARAL FONTANARI

Nascimento- 21/12/1984 Maringá-Pr

Filiação- Luiz Carlos Fontanari  
Lucília Amaral Fontanari

2002-2006- Graduação em Odontologia  
Universidade Estadual de Londrina –  
UEL

2007-2009- Especialização em Periodontia  
Faculdade de Odontologia de Araraquara-  
UNESP

2008-2010- Curso de Pós-Graduação em Odontologia  
Área de Periodontia, Nível Mestrado,  
Faculdade de Odontologia de Araraquara-  
UNESP.

**Dedico este trabalho...**

## **À minha mãe**

**Lucília**, exemplo de mulher, pela determinação, apoio e eterno incentivo.

.

## **Ao meu pai**

**Luiz Carlos**, por ser um exemplo de profissional e pela sua sincera amizade. Sem dúvida o meu melhor amigo.

## **À minha irmã**

**Daniela**, por ajudar a trilhar meu caminho profissional e pelos incentivos aos estudos.

**Amo vocês**

# **Agradecimentos Especiais**

## **À minha avó**

**Mercedes**, sem ela minha caminhada profissional seria bem mais árdua.

## **Ao meu padrinho**

**Lisis** por sua paciência e ajuda durante toda minha vida. Meus sinceros agradecimentos tio.

## **À minha tia**

**Patrícia** uma pessoa muito especial que Deus me deu o prazer de conviver.

## **À minha namorada**

**Juliana** pelo companherismo, amor, e muita paciência durante a realização deste trabalho.

# **Agradecimentos Especiais**

## **Ao meu orientador**

**Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio**

Pela orientação, amizade, confiança e respeito adquiridos pela nossa convivência. Obrigado por ser mais que um orientador, por ser um pai em Araraquara.

## **Aos amigos**

**Guilherme, Marcos (popotinha) e João.**

Obrigado pelo companheirismo, amizade e paciência. Vocês tornam meus dias em Araraquara mais alegres e completos.

# **Agradecimentos Especiais**

## **Aos meus eternos professores**

Humberto (**Betão**), Rubens (**Rubão**), **Andres**, Rafael (**Finha**), Renatinho, **Darlon** e **Adriano**. Meus sinceros agradecimentos por cada momento especial que vocês me proporcionaram.

# Os meus sinceros agradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP**,  
pela oportunidade de crescimento profissional.

Aos **professores da Disciplina de Periodontia** da  
Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP:  
Adriana, Élcio, José Eduardo, Joni e Silvana, pelos  
conhecimentos transmitidos.

A todos os **funcionários do Departamento de  
Diagnóstico e Cirurgia**, em especial à Regina Lúcia,  
D.Maria, Cláudia e Maria José, pelo carinho e atenção a  
mim dispensados.

Aos **funcionários de Pós-graduação** em especial à  
Mara, pela atenção e paciência.

Ao colega **Rodrigo Cavassim** pela colaboração para  
realização desta pesquisa.

A todos os colegas do curso de pós-graduação.

Aos pacientes que cederam seus dentes para realização desta pesquisa.

A CAPES, pelo apoio financeiro por meio da Bolsa de Estudos.

**A Deus**, pela minha saúde e pelas oportunidades a mim oferecidas.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	14
ABSTRACT.....	17
INTRODUÇÃO .....	19
REVISÃO DE LITERATURA .....	24
PROPOSIÇÃO .....	37
MATERIAL E MÉTODOS .....	39
RESULTADOS .....	55
DISCUSSÃO .....	59
CONCLUSÃO .....	68
REFERÊNCIAS .....	70
ANEXOS .....	81

## **RESUMO**

---

---

## RESUMO

**Fontanari, L.A. Biomodificação radicular em dentes expostos e não-expostos à placa bacteriana [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2010.**

O fator etiológico principal da doença periodontal é a placa bacteriana e a raspagem e o alisamento radicular é o tratamento utilizado para removê-lo, mas, além de não promover total descontaminação forma *smear layer* que pode funcionar com uma barreira física ao restabelecimento de uma nova inserção conjuntiva, atrasando ou até impedindo a regeneração dos tecidos periodontais. O condicionamento radicular com diferentes agentes químicos visa remover a *smear layer* e expor fibras colágenas da superfície radicular promovendo uma descontaminação adicional à raiz, favorecendo o processo de reparação do periodonto. Apesar de alguns estudos *in vitro* apresentarem resultados favoráveis à realização do condicionamento radicular, estudos *in vivo* apresentam resultados controversos. Estes resultados conflitantes podem ser atribuídos a diversos fatores e provavelmente o grau de hipermineralização do dente seja um dos mais importantes fatores. Assim, este estudo avaliou o condicionamento radicular com diferentes agentes (ácido cítrico 25% e 1%, EDTA 24%, cloridrato de tetraciclina 50mg/ml e solução salina) em espécimes de dentes com cálculo visível (expostos à placa bacteriana) e dentes inclusos (não expostos à placa bacteriana). Após tramitação laboratorial de rotina os espécimes foram fotografados em microscopia eletrônica de varredura. Um examinador treinado, calibrado e cego avaliou as fotomicrografias obtidas utilizando o Índice de Remoção de Smear Layer. A análise estatística (teste Mann Whitney) foi realizada comparando-se a frequência dos escores obtidos, e mostrou que houve uma tendência a dentes não expostos à placa bacteriana apresentarem

maior facilidade de remoção de *smear layer* (desmineralização), quando comparados a dentes expostos à placa bacteriana.

Palavras-chave: Camada de esfregaço; microscopia eletrônica de varredura; ácido cítrico.

## **ABSTRACT**

---

---

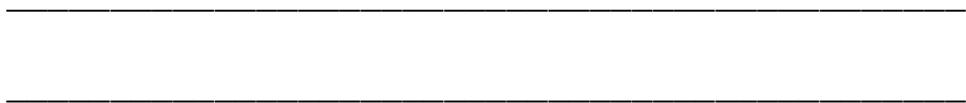
## **ABSTRACT**

**Fontanari, L.A. Root biomodification in teeth exposed and not exposed to plaque [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2010.**

The main etiological factor of periodontal disease is dental plaque and scaling, and root planning is the treatment used to remove it. This treatment doesn't promote total decontamination and it forms *smear layer* which can work as a physical barrier to establish a new connective insertion, delaying or even preventing the regeneration of periodontal tissues. The root conditioning with different chemical agents aims to remove the smear layer and expose collagen fibers on the root surface promoting additional root decontamination, thus resulting in the periodontal repair. Although some in vitro studies produce favorable results to perform of root conditioning, in vivo studies are controversial. These conflicting results may be attributed to several factors and the degree of tooth hypermineralization is probably one of the most important factors. Thus, this study examined the root conditioning with different agents (25% and 1% citric acid, 24% EDTA, 50 mg/ml tetracycline hydrochloride and saline solution) in tooth specimens with visible calculus (exposed to dental plaque) and impacted teeth (not exposed to plaque). After routine laboratory performance, specimens were photographed in scanning electron microscopy. A trained examiner, blinded and calibrated, evaluated the photomicrographs by the Index of smear layer removal. Statistical analysis (Mann Whitney test) was performed to compare the score frequency, and showed that teeth not exposed to dental plaque presented easier of smear layer removal (demineralization) when compared to teeth exposed to dental plaque.

**Keywords:** Smear layer; scanning electron microscopy; citric acid.

## **INTRODUÇÃO**



## Introdução

A placa bacteriana é o principal agente etiológico da doença periodontal<sup>57</sup>. Os produtos metabólicos destas bactérias produzem toxinas, capazes de se fixar à superfície do cimento, podendo levar à destruição progressiva do periodonto de sustentação<sup>47</sup>. Além da contaminação do cimento e dentina por bactérias<sup>1, 25</sup> e suas toxinas<sup>13, 22, 43, 48</sup>, as superfícies radiculares que perderam inserção sofrem alterações como a hipermineralização<sup>72</sup>.

Visando minimizar ou até mesmo eliminar o fator etiológico principal, é realizado a raspagem e o alisamento radicular, que consistem na remoção da placa bacteriana, de cálculos dentários supra e subgingivais assim como de cimento e dentina contaminados. Embora essas terapias tenham provado serem efetivas, não restauram a anatomia do periodonto perdido, resultando apenas em reparo da ferida periodontal<sup>44</sup>, além de formarem uma fina camada de resíduos chamada *smear layer*<sup>5, 50</sup>.

Esta camada de aproximadamente 5 micrometros de espessura que se deposita sobre a dentina radicular é composta de remanescentes de cálculo, placa bacteriana, dentina e cimento contaminado. Estudos sugerem que a *smear layer* interposta entre a raiz e o tecido conjuntivo impede a ligação do coágulo sanguíneo à superfície radicular<sup>5</sup> e pode servir como uma barreira física ao restabelecimento da inserção periodontal<sup>30</sup>.

A biomodificação radicular envolve o tratamento químico das superfícies radiculares desprovidas de inserção periodontal, visando a remoção de *smear layer* e a desmineralização da superfície radicular, sobretudo, procurando descontaminar a raiz, com o objetivo de melhorar o padrão de cicatrização, regenerando total ou parcialmente os tecidos periodontais perdidos<sup>8, 12</sup>. Acredita-se que a biomodificação radicular tem

o potencial de otimizar a regeneração dos tecidos periodontais por meio de diversos mecanismos: 1) indução da cementogênese<sup>52-53</sup>; 2) estabilização do coágulo de fibrina<sup>51, 71</sup>; 3) interdigitação do colágeno do conjuntivo gengival com o da estrutura dental<sup>56</sup>; 4) otimização da adesão, viabilidade e crescimento de fibroblastos sobre superfícies dentinárias que tiveram a sua matriz colágena exposta<sup>65, 70-71</sup>.

Vários estudos utilizando diferentes agentes químicos têm sido realizados com intuito de avaliar a eficiência do condicionamento radicular na remoção de *smear layer* e na exposição de fibras colágenas da dentina<sup>13-14, 19, 34, 49, 55</sup>.

Neste contexto, um dos primeiros agentes a ser utilizado foi o ácido cítrico. Alguns autores observaram maior inserção de fibroblastos sobre a raiz, cementogênese e neoformação óssea<sup>17, 40</sup> quando este agente era utilizado em adição a raspagem e alisamento radicular. Porém, efeitos prejudiciais às células do tecido periodontais foram observados em estudos posteriores que avaliaram o forte poder necrozante deste ácido, devido seu baixo pH<sup>11, 39</sup>.

O cloridrato de tetraciclina (TTC HCl) também foi estudado e muitas características favoráveis foram observadas inicialmente. Estudos realizados *in vitro* mostraram aumento da união da glicoproteína fibronectina à dentina, estimulando a proliferação e adesão de fibroblastos, como também promoveu supressão da inserção e do crescimento das células epiteliais<sup>35</sup>. Outras propriedades observadas foram: atividade anticlagenase<sup>27</sup>, inibição da função de osteoclastos<sup>28</sup> e da função neutrofílica<sup>23</sup>, bem como, eficiente substantividade<sup>35</sup>. Porém, estudos posteriores encontraram limitada capacidade de remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas<sup>29</sup> e possível interferência na viabilidade celular<sup>2</sup>, da mesma forma que o ácido cítrico, nos eventos iniciais da cicatrização, devido a seu baixo pH<sup>11</sup>.

Frente a estes efeitos adversos encontrados em agentes de baixo pH como ácido cítrico e o cloridrato de tetraciclina, um agente de pH básico (EDTA) começou a ser utilizado.

Estudos utilizando EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), como condicionador da superfície radicular mostraram que este agente não induz nenhuma necrose detectável durante o experimento<sup>11, 15</sup>, não produzindo, portanto, efeitos adversos quanto à viabilidade celular. Além disso, este agente foi mais eficiente na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas da dentina e cimento<sup>15</sup>, removendo apenas a matriz inorgânica dentinária e preservando a rede de fibras colágenas, por ser um potente quelante de íons cálcio. Porém, alguns estudos verificaram que a forte ação quelante do EDTA pode prejudicar ou até impedir a adsorção e adesão de elementos sanguíneos à superfície radicular<sup>20, 42</sup>.

Além das características químicas de cada agente condicionador, vários outros fatores podem interferir nos resultados de estudos utilizando a biomodificação radicular, tais como: a concentração e pH do agente utilizado<sup>10, 35</sup>; o modo<sup>16</sup> e o tempo<sup>62</sup> com que são aplicados sobre a superfície radicular; o tipo de raspagem realizada (manual ou ultrassônica)<sup>33, 36, 63</sup>; a possibilidade de diluição e inativação parcial da substância quando em contato com o sangue durante o procedimento cirúrgico<sup>55</sup>; modo de preparo das amostras e das substâncias; a falta de padronização de um índice universal para o grau de remoção de *smear layer*; e possivelmente o grau de contaminação (hipermineralização) do dente<sup>24, 72</sup>. Este último fator pode estar relacionado com o tempo de exposição do dente à placa bacteriana, interferindo provavelmente em seu grau de hipermineralização, tornando mais difícil sua descontaminação e desmineralização, influenciando diretamente nos resultados inconsistentes da biomodificação radicular.

Assim sendo, parece oportuna a realização de estudos, que avaliem se estes fatores citados acima determinam dificuldade na biomodificação radicular e assim estabelecer os melhores parâmetros a serem utilizados para a obtenção de uma superfície biocompatível, principalmente em relação ao seu grau de hipermineralização.

## **REVISÃO DA LITERATURA**

---

---

## Revisão da literatura

Devido à vasta literatura que aborda os agentes condicionantes da superfície radicular, foram selecionados apenas estudos que mais se aproximaram da metodologia do presente estudo, ou seja, estudos *in vitro* e que utilizaram microscopia eletrônica de varredura (MEV) para a obtenção dos resultados. Além disso, com o intuito de realizar uma revisão de literatura mais didática, os estudos foram descritos em ordem cronológica, pois muitos deles abordam mais que um agente condicionante, o que dificultaria a separação em tópicos.

Garret et al.<sup>24</sup> (1978), foram um dos primeiros grupos de pesquisadores que utilizaram agentes condicionantes da superfície radicular. Dentes extraídos por motivos de doença periodontal avançada foram submetidos à aplicação de solução saturada de ácido cítrico (pH 1.0). Após a análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV), os autores concluíram que o uso do ácido aumenta o número de fibras colágenas expostas e a quantidade de irregularidades da superfície radicular. Além disso, afirmaram que a aplicação de ácido cítrico só teve efeito sobre superfícies previamente raspadas, com remoção de cimento, pois dentes com comprometimento periodontal se apresentam hipermineralizados. Em 1979, Withlin et al.<sup>72</sup> também observaram que dentes com perda de inserção sofrem um aumento na mineralização (hipermineralização), devido ao aumento de cálcio, magnésio, fósforo e fluoreto sobre as raízes desnudas.

Com intuito de verificar se apenas a raspagem e o alisamento radicular eram suficientes para a descontaminação da raiz e remoção de *smear layer*, Lasho et al.<sup>41</sup> (1983) utilizaram 50 dentes humanos extraídos devido à doença periodontal avançada. Metade dos dentes foi raspada levemente apenas para remoção do cálculo, e a outra metade foi raspada vigorosamente até a remoção de todo cimento e obtenção de uma

superfície lisa e polida. As amostras receberam aplicação dos seguintes agentes condicionantes: 1) Solução saturada de ácido cítrico por 3 minutos; 2) Solução de EDTA a 15% por 5 minutos; 3) Hipoclorito de sódio por 5 minutos; 4) Hipoclorito de sódio por 5 minutos + ácido cítrico por 30 segundos e 5) Deoxicolato de sódio a 2% por 1 minuto + fração IV de Chon's por 1 minuto. Os autores concluíram que as superfícies raspadas levemente para remoção do cálculo apresentaram poucas fibras colágenas expostas após o condicionamento radicular e que as substâncias dos grupos 3 e 5, não apresentaram *smear layer* removida. Além disso, afirmaram que para exposição de fibras colágenas da superfície dentinária e maior remoção de *smear layer*, deveriam ser utilizados em adição à raspagem, agentes como EDTA, ácido cítrico, ou hipoclorito + ácido cítrico.

Visando analisar a natureza da superfície radicular após aplicação de ácido cítrico, Polson et al.<sup>50</sup> (1984) realizaram um estudo *in vitro* com auxílio de microscopia eletrônica de varredura. Após a exodontia de incisivos e pré-molares de macacos, a metade coronária da raiz de todos os dentes foi raspada para remover ligamento periodontal e o cimento e, em seguida, foram divididos em 2 grupos. Ambos receberam raspagem e alisamento radicular, e somente um grupo recebeu posterior aplicação de ácido cítrico, pH 1 por 3 minutos. Os autores concluíram que o grupo que recebeu aplicação de ácido cítrico em adição à raspagem e alisamento radicular, apresentou superfícies ligeiramente irregulares com numerosas depressões afuniladas e zonas intertubulares com fibras interpostas. Porém, o grupo que não recebeu o condicionamento químico da superfície radicular apresentou superfície irregular, a qual correspondia a *smear layer*.

Um estudo pioneiro utilizando o cloridrato de tetraciclina no condicionamento radicular foi realizado por Wikesjö et al.<sup>70</sup> (1986). Os autores avaliaram *in vitro*, a capacidade de adsorção e de liberação do cloridrato de tetraciclina (TTC HCl), à superfície dentinária, bem como o

aspecto morfológico das superfícies. Foram utilizadas diferentes concentrações do TTC HCl, porém, concentrações superiores a 50mg/mL obtiveram os maiores valores de adsorção. Os autores puderam observar também, a excelente substantividade do TTC HCl, que manteve a concentração inibitória mínima (CIM) para maioria das bactérias por um período de 48 horas, além da remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas.

Com objetivo de analisar a topografia da superfície radicular condicionada com ácido cítrico, por meio de diferentes formas de aplicação deste agente, Sterrett, Bain<sup>59</sup> (1987) utilizaram amostras onde era aplicado o ácido passivamente com bolinhas de algodão durante 5 minutos, ou, ativamente por fricção vigorosa das bolinhas de algodão durante o mesmo tempo. As fotomicrografias obtidas das amostras que receberam aplicação por fricção vigorosa mostraram túbulos dentinários abertos com densa rede de fibras colágenas expostas, enquanto que as amostras que receberam aplicação passiva apresentaram túbulos abertos porém, com poucas fibras expostas.

Com o objetivo de validar os resultados obtidos em 1987, Sterrett, Murphy<sup>61</sup> (1989) também encontraram fibras colágenas mais densas quando foi utilizado o ácido cítrico (pH 1 por 5 minutos) por fricção vigorosa, em relação à aplicação passiva do mesmo agente, e também, ambas as formas de aplicação foram capazes de remover *smear layer*, corroborando totalmente os resultados obtidos em 1987 por Sterret, Bain<sup>59</sup>.

Fardal, Lowenberg<sup>21</sup> (1990) estudaram o crescimento de fibroblastos em 120 fragmentos de dentina originados de raízes de dentes com doença periodontal avançada e de dentes saudáveis. Os 120 fragmentos foram divididos em 9 grupos: 1) raízes com doença periodontal que receberam raspagem e alisamento radicular (RAR); 2) raízes com doença periodontal que receberam raspagem e alisamento radicular + ácido cítrico (pH 1); 3) raízes com doença periodontal que não

receberam tratamento; 4) raízes com doença periodontal que receberam apenas condicionamento com ácido cítrico (pH 1); 5) raízes de dentes saudáveis; 6) raízes de dentes saudáveis que receberam condicionamento com ácido cítrico (pH 1); 7) raízes de dentes saudáveis que receberam condicionamento com ácido cítrico (pH 1) e colagenase; 8) raízes de dentes saudáveis que receberam condicionamento com EDTA 18%; 9) raízes de dentes saudáveis que receberam condicionamento com EDTA 18% e colagenase. Os autores puderam concluir que a aplicação de um agente químico condicionador radicular sozinho não foi suficiente para obter biocompatibilidade. Os melhores resultados aconteceram nos grupos onde houve associação de raspagem e alisamento radicular + EDTA 18% ou raspagem e alisamento radicular + ácido cítrico (pH 1). Além disso, puderam observar que, somente a exposição de matriz colágena dentinária não explica a melhor biocompatibilidade, uma vez que a digestão do colágeno dental utilizando colagenase não interferiu na biocompatibilidade aferida por meio da adesão de fibroblastos às superfícies radiculares tratadas.

Em 1991, Codelli<sup>16</sup> pode comprovar os resultados obtidos por Sterret, Bain<sup>59</sup> (1987) e por Sterrett, Murphy<sup>61</sup> (1989), onde, quando foram comparadas diferentes formas de aplicação do ácido cítrico, os melhores resultados para remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas foram obtidos pela aplicação vigorosa do agente condicionante. Neste estudo, os autores puderam observar também melhores resultados quando o ácido cítrico era aplicado de forma vigorosa por 3 minutos, já que, quando aplicados por 5 minutos causaram hiperdesmineralização com desnaturação das fibras colágenas da superfície radicular.

No mesmo ano, utilizando microscopia eletrônica de varredura, Hanes et al.<sup>29</sup> (1991) observaram que quando comparados dentes que recebiam raspagem + ácido cítrico (pH 1, por 5 minutos) ou raspagem + cloridrato de tetraciclina 0.5% (pH 3.2, por 5 minutos), havia diferenças na morfologia dentinária radicular. As superfícies condicionadas com ácido

cítrico resultaram em maior exposição de túbulos dentinários e fibras colágenas, entretanto, nenhuma amostra condicionada com tetraciclina 0.5% apresentou remoção de *smear layer*.

Estes resultados de Hanes et al.<sup>29</sup> (1991) estimularam outros estudos comparando ácido cítrico e o cloridrato de tetraciclina. Em 1992, Labahn et al.<sup>37</sup> observaram a ação destes agentes condicionadores sobre superfícies radiculares com diferentes formas de aplicação. Foram utilizados terceiros molares inclusos recém-extraídos, e sobre eles, aplicado ácido cítrico ou cloridrato de tetraciclina, de forma passiva ou ativa (fricção) durante 30, 60, 120 e 240 segundos. Os autores observaram que amostras condicionadas com ácido cítrico apresentavam maior exposição de túbulos dentinários, corroborando os resultados encontrados por Hanes et al.<sup>29</sup> (1991), entretanto, o modo de aplicação dos agentes não exerceu influência.

Entretanto, resultados encontrados por Lafferty et al.<sup>38</sup> (1993) não encontraram superioridade do ácido cítrico em relação à tetraciclina, discordando dos estudos anteriores de Hanes et al.<sup>29</sup> (1991), e Labahn et al.<sup>37</sup> (1992). Amostras de dentes com doença periodontal avançada tiveram o cimento removido por brocas e receberam: grupo 1) raspagem manual; grupo 2) raspagem + ácido cítrico (aplicado de forma passiva por 5 minutos); grupo 3) raspagem + cloridrato de tetraciclina (aplicado de forma passiva por 5 minutos). Os autores observaram que o grupo 1 apresentava superfície radicular recoberta por *smear layer*, porém, os grupos 2 e 3 foram igualmente efetivos na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas.

Trombelli et al.<sup>67</sup> (1994) estudaram o cloridrato de tetraciclina (TTC HCl) em diferentes concentrações e tempos de aplicação. Amostras de cimento e dentina obtidas de terceiros molares impactados foram divididas aleatoriamente conforme o tratamento recebido nos seguintes grupos: a) soro fisiológico por 1 minuto (controle); b) TTC HCl 62,5 mg/mL por 1 minuto; c) TTC HCl 62,5 mg/mL por 4 minutos; d) TTC HCl 125

mg/mL por 1 minuto; e) TTC HCl 125 mg/mL por 4 minutos. A forma de aplicação das substâncias foi por fricção com bolinhas de algodão, umedecidas a cada 30 segundos, para todos os grupos. Os autores observaram que nas amostras de cimento quando era aplicado apenas o soro fisiológico a *smear layer* estava presente, entretanto, quando era aplicado TTC HCl, as fibras colágenas estavam expostas e não havia *smear layer*. Nestas amostras o tempo de aplicação e a concentração do TTC HCl não influenciaram nos resultados. Por outro lado, nas amostras de superfícies dentinárias o grupo controle apresentava *smear layer* ocluindo os túbulos dentinários, já os grupos onde o TTC HCl foi aplicado por 1 minuto apresentavam indícios de *smear layer* na abertura dos túbulos dentinários, e nos grupos onde o TTC HCl foi aplicado durante 4 minutos foi observada ausência de *smear layer* e exposição de fibras colágenas. Para as superfícies dentinárias, a concentração também não influenciou nos resultados, apenas o tempo de aplicação.

No ano seguinte, 1995, Trombelli et al.<sup>68</sup> utilizaram metodologia semelhante ao estudo anterior<sup>67</sup>, e verificaram a ação da aplicação do TTC HCl nas concentrações de 10 mg/mL ou 100 mg/mL, durante 1 ou 4 minutos, sobre superfícies radiculares. Corroborando com seu estudo anterior<sup>67</sup> os melhores resultados (remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas) foram observados em microscopia eletrônica de varredura para amostras condicionadas com TTC HCl durante 4 minutos, independente da concentração utilizada. Os autores concluíram que acima da concentração de 10mg/mL, quando aplicados por fricção durante 4 minutos, o TTC HCl é capaz de remover *smear layer* e expor fibras colágenas, mas que a diminuição do tempo de aplicação poderia comprometer a efetividade do condicionamento com TTC HCl.

Também visando encontrar melhores parâmetros para utilização dos agentes condicionantes, Sterrett et al.<sup>60</sup> (1995) avaliaram diferentes modos de aplicação do ácido cítrico nas superfícies radiculares. Amostras de dentes humanos (n=10) tiveram sua camada de cimento removida por

meio de fresas e a dentina foi alisada com instrumentos manuais, e outras 10 amostras foram apenas raspadas preservando o cimento. O ácido cítrico 30% (pH 1,62) foi aplicado de 3 maneiras: 1) topicamente (aplicação passiva); 2) levemente friccionada contra a superfície radicular; 3) fortemente friccionada. Tanto para superfícies cementárias, quanto para dentinárias, a maior remoção de *smear layer* foi observada nos modos de aplicação por fricção leve ou forte.

Blomlöf et al.<sup>10</sup> (1997) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de EDTA na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas. As amostras obtidas de dentes humanos extraídos por severo comprometimento periodontal foram condicionadas com 1,5%, 5%, 15% e 24% de gel de EDTA durante 2 minutos. Os autores concluíram que as concentrações de 15% e 24% foram mais efetivas para remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas.

Devido à escassez de estudos que utilizassem mais que 2 agentes biomodificadores, Bergenholtz, Babay<sup>9</sup> (1998) avaliaram por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), a textura radicular de dentes extraídos por comprometimento periodontal severo após a aplicação de ácido cítrico (pH 1.0), TTC HCL (pH 1.8), EDTA 8% e solução salina (controle). Os autores sugeriram a combinação de fricção por 10 segundos com solução salina ou algum agente ácido, seguido de aplicação por 40 segundos de EDTA 8%, como um método para se obter superfícies radiculares favoráveis à regeneração periodontal.

Discordando dos resultados encontrados por Trombelli et al.<sup>67</sup> (1994) e Trombelli et al.<sup>68</sup> (1995) em relação ao tempo de condicionamento ideal para o cloridrato de tetraciclina, Isik et al.<sup>35</sup> (2000) utilizaram diferentes concentrações deste agente (10, 25, 50, 75, 100, 125 e 150 mg/mL) em diferentes tempos de aplicação (1, 3 e 5 minutos). Após obtenção das fotomicrografias em microscopia eletrônica de varredura, os autores concluíram que independente do tempo de aplicação e das

concentrações empregadas, o TTC HCl removeu *smear layer* de forma eficiente.

Baker et al.<sup>7</sup> (2000) após estudarem a importância da estabilização do coágulo para a formação de uma nova inserção conjuntiva, avaliaram a adsorção e adesão de elementos sanguíneos em superfícies radiculares condicionadas pelo ácido cítrico. O estudo foi realizado em amostras de dentes humanos, com auxílio de microscopia eletrônica de varredura, e foi dividido em 4 grupos: 1) raspagem; 2) raspagem + imersão em ácido cítrico por 5 minutos; 3) raspagem + tecido sanguíneo; 4) raspagem + imersão em ácido cítrico por 5 minutos + tecido sanguíneo. Os autores concluíram que as superfícies imersas em ácido cítrico estavam livres de detritos e que a rede de fibrina estava diretamente inserida a elas. Entretanto, nas amostras que não foram imersas em ácido cítrico, a presença de *smear layer* dificultou a formação e estabilização da rede de fibrina.

Baseado no estudo de Blomlöf et al.<sup>10</sup> (1997), Pilatti et al.<sup>49</sup> (2001) avaliaram não apenas a influência da concentração, como também, do modo e do tempo de aplicação do gel de EDTA no grau de remoção de *smear layer* da superfície dentinária. Foram utilizadas as concentrações de 5%, 10%, 20% e 24%, aplicados por fricção ou topicamente com bolinhas de algodão, durante 1, 2 e 3 minutos. Os autores concluíram que a aplicação ativa foi a mais eficiente na remoção de *smear layer*, exceto para a concentração de 5%, e o tempo de 3 minutos apresentou resultados superiores aos demais tempos.

Babay<sup>4</sup> (2002) observou, *in vitro*, a adesão de fibroblastos gengivais em superfícies radiculares doentes nos seguintes tratamentos: instrumentação ultrassônica; condicionamento com cloridrato de tetraciclina; instrumentação ultrassônica + condicionamento com cloridrato de tetraciclina. O autor observou que houve significativo aumento de fibroblastos aderidos às amostras que receberam apenas instrumentação ultrassônica ou instrumentação seguida de condicionamento com

cloridrato de tetraciclina. No mesmo ano, Mata<sup>45</sup> estudou a eficácia de altas concentrações (50mg/mL, 125mg/mL, 250mg/mL, 500mg/mL) deste agente condicionador na remoção de *smear layer*, sobre diferentes formas e tempos de aplicação. Os melhores resultados foram obtidos pelas concentrações de 125mg/mL e 250mg/mL, independente do tempo e modo de aplicação.

No ano seguinte 2003, Dantas<sup>19</sup> utilizou dentes humanos extraídos que tiveram o cimento removido por brocas em alta rotação e foram raspados com 50 movimentos de curetas Gracey 5/6. Após a preparação das amostras, diferentes concentrações (10, 25, 50 e 75mg/mL) de cloridrato de tetraciclina (TTC HCl) foram aplicadas sobre elas, em diferentes modos (fricção passiva, ativa e topicamente com bolas de algodão) e tempos (1, 2 e 3 minutos) de aplicação. Os resultados mostraram que as concentrações de 50 e 75mg/mL foram as mais efetivas, assim como os tempos de 2 e 3 minutos para a remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas. Apenas o modo de aplicação tópico mostrou-se insatisfatório.

Souza<sup>58</sup> (2004) avaliou a efetividade de diferentes marcas de EDTA 24% na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas da superfície dentinária. Os dentes extraídos por doença periodontal avançada, tiveram o cimento removido com brocas no terço cervical e a dentina raspada. Após este procedimento, as amostras foram separadas conforme o tratamento empregado: A) aplicação de soro fisiológico (controle); B) EDTA manipulado (Farmácia Santa Paula - Araraquara); C) EDTA associado ao detergente Texapon (Farmácia Santa Paula - Araraquara); D) EDTA (Pref Gel, Biora); E) EDTA (EDTA Gel, Biodinâmica). Diferentes formas de aplicação (tópica, fricção suave com pincel, fricção vigorosa com bolinhas de algodão) em diferentes tempos (1, 2 e 3 minutos) foram utilizadas. Após análise das fotomicrografias, o autor observou que exceto para a marca Biodinâmica, a aplicação de gel de EDTA 24% pelo método de fricção suave (pincel) foi a mais efetiva na

remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas, independente do tempo utilizado.

Baker et al.<sup>5</sup> (2005) avaliaram o efeito do condicionamento de amostras de dentina humana com proteínas construtoras (albumina bovina ou proteínas da matriz do esmalte), ácido cítrico ou gel de EDTA 24%. Após o preparo e condicionamento das amostras, sangue humano fresco foi depositado sobre elas. Após o tempo de vinte minutos esperado para completa formação e estabilização do coágulo, as amostras foram processadas e analisadas em microscopia eletrônica de varredura. O ácido cítrico limpou totalmente a superfície das amostras abrindo os túbulos e obteve grande retenção de coágulo. As amostras condicionadas com EDTA mostraram restos de *smear layer* recobrindo os túbulos dentinários e uma menor quantidade de coágulo, o qual se soltava facilmente da superfície. As amostras tratadas com proteínas construtoras não mostraram nenhuma alteração na camada de resíduos e não foram capazes de reter o coágulo. Portanto, os autores afirmaram que o ideal é o uso de um agente que remova *smear layer* e exponha fibras colágenas para melhor retenção do coágulo.

Neste contexto, Leite et al.<sup>42</sup> (2005) realizaram um estudo comparando a adsorção e adesão de elementos sanguíneos sobre as superfícies dentinárias condicionadas com diferentes agentes. Os 150 fragmentos de dentes humanos foram divididos em 5 grupos: 1) irrigação com água destilada (controle); 2) aplicação de ácido cítrico 25%; 3) aplicação de citrato de sódio 30%; 4) aplicação de gel de EDTA 24%; 5) aplicação da solução de cloridrato de tetraciclina (TTC HCl) 50mg/mL. O gel de EDTA 24% e o citrato de sódio 30% foram aplicados por fricção suave com pincel macio por 3 minutos, enquanto que, o ácido cítrico e o TTC HCL por fricção vigorosa por 3 minutos. Após o condicionamento foi depositada uma gota de sangue fresco sobre cada amostra. A observação em microscopia eletrônica de varredura mostrou que todas as substâncias testadas foram efetivas na remoção de *smear layer*, exceto o

controle porém, os melhores resultados foram observados nas amostras condicionadas com o ácido cítrico. O ácido cítrico também se mostrou mais efetivo na adesão de elementos sanguíneos, sugerindo, segundo os autores, uma relação positiva entre exposição de fibras colágenas e adesão de elementos sanguíneos.

Com intuito de confirmar a importância de um condicionamento da superfície radicular na adesão de elementos sanguíneos, Dantas<sup>20</sup> (2008) realizou um estudo em que amostras de raízes dentes humanos foram condicionadas, com diferentes agentes, e receberam uma gota de sangue e ainda, plasma rico em plaquetas (PRP). Oitenta dentes extraídos por comprometimento periodontal avançado foram raspados e divididos em 5 grupos: irrigação com água destilada (controle); aplicação de solução de ácido cítrico 25%; gel de EDTA 24%; TTC HCl 50mg/mL e citrato de sódio 30%. Em metade das superfícies condicionadas foi aplicado o PRP e na outra metade o PRP + sangue fresco. Em relação à remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas, todos agentes apresentaram resultados melhores que o controle, sendo o ácido cítrico o agente que se mostrou mais efetivo seguido do EDTA. O ácido cítrico foi ainda o único agente capaz de reter uma rede de fibrina bem definida e apresentou o melhor resultado para adesão de elementos sanguíneos, sugerindo que o PRP pode ter favorecido a adesão de elementos sanguíneos nas amostras condicionadas com ácido cítrico.

Cavassim<sup>14</sup> (2008) estudou diferentes concentrações, formas e modos de aplicação deste agente. Dentes humanos extraídos por comprometimento periodontal avançado foram raspados e as amostras preparadas divididas em 6 grupos: soro fisiológico (controle), ácido cítrico (0.5%, 1%, 2%, 15% e 25%), com tempos de 1, 2 ou 3 minutos para cada grupo, nos modos de aplicação (passiva com bolinha de algodão, fricção suave com pincel, fricção vigorosa com bolinha de algodão). Após análise das fotomicrografias o autor concluiu que a concentração de 25%

aplicada por fricção suave no tempo de 3 minutos é a recomendada para a utilização do ácido cítrico na biomodificação radicular.

Ishi et al.<sup>34</sup> (2008) avaliaram a eficácia do cloridrato de tetraciclina (TTC HCl) na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas das superfícies dentinárias. O cimento radicular das amostras foi removido com brocas diamantadas, processo seguido de raspagem e alisamento radicular com cureta. As 450 amostras foram divididas em 10 grupos, o controle (soro fisiológico) e os que compreendiam a aplicação de TTC HCl nas concentrações de: 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200 e 250mg/mL. Todos os grupos receberam essa aplicação de diferentes formas (passiva, pincel e fricção) e em diferentes tempos (1, 2 e 3 minutos). Após análise das fotomicrografias os autores concluíram que as concentrações de 50 e 75mg/mL aplicadas de forma ativa durante 2 ou 3 minutos foram as mais efetivas na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas.

## **PROPOSIÇÃO**

---

---

## **Proposição**

Este estudo teve por objetivo avaliar a efetividade de diferentes agentes químicos (ácido cítrico, EDTA e cloridrato de tetraciclina) na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas em dentes expostos ou não à placa bacteriana.

## **MATERIAL E MÉTODO**

---

---

## **Material e Método**

O protocolo deste projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP (Protocolo CEP-FO/CAr nº 39/07) (Anexo 1). Todos os dentes utilizados no presente estudo foram obtidos após aprovação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 2).

### **Seleção dos dentes**

Foram utilizados 70 dentes humanos permanentes, uni ou multirradiculares, obtidos junto à Clínica de Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP. Metade dos dentes selecionados (n=35) estava exposto à placa bacteriana (figura 1), e a outra metade (n=35) estava incluso, ou seja, não exposto à placa bacteriana (figura 2). Além disso, para inclusão nesta pesquisa os dentes expostos à placa deveriam apresentar comprometimento periodontal severo (perda de inserção de mais da metade do segmento radicular) e cálculo aderido à superfície radicular. Por outro lado, os dentes não expostos à placa bacteriana tiveram como único critério de inclusão possuir a junção cimento-esmalte intacta, fundamental como referência na integridade das amostras.

Após a exodontia, os dentes expostos e não expostos à placa bacteriana foram armazenados em recipientes distintos, contendo água de torneira, para evitar ressecamento e não prejudicar a posterior visualização no microscópio eletrônico de varredura (MEV).

### **Obtenção das amostras**

A área de trabalho escolhida para realização do estudo foi o terço cervical da raiz. Os dentes foram preparados, por um único pesquisador treinado, de acordo com o protocolo descrito a seguir:

Foram realizados, com auxílio de uma broca cilíndrica em alta rotação nº 2135 (KG SORENSEN, Barueri-SP) sob irrigação constante, dois sulcos paralelos de profundidade aproximada de 0,5mm (metade do diâmetro da broca). O primeiro na junção cimento-esmalte (figura 3) e o segundo 4mm apical ao primeiro sulco (figura 4), delimitando assim a área de trabalho (figura 5).

Estes sulcos foram realizados em duas faces dentais, escolhidas de acordo com o dente, devido à possibilidade de fornecer amostras mais planas, amplas e sem acidentes anatômicos. Assim, ou foram selecionadas as faces vestibular e lingual, ou as faces mesial e distal de cada dente.

Posteriormente, foram realizados 50 movimentos de raspagem e alisamento radicular (figura 6), no sentido ápico-cervical, na área de trabalho em cada face dental com curetas de Gracey 5-6 novas (Neumar®), com objetivo de descontaminar mecanicamente as amostras e, conseqüentemente, garantir a formação de *smear layer*. Sempre que necessário a cureta foi afiada com uma pedra de Arkansas (Hu-Friedy-EUA).

Uma vez raspada a área de trabalho, foram realizados os procedimentos de obtenção da amostra: com um disco diamantado de dupla face (KG SORENSEN, Barueri-SP) montado em peça reta em baixa rotação, a coroa foi removida na altura do 1º sulco (figura 7). Em seguida, em sentido longitudinal, foi realizada uma secção até a altura do 2º sulco (figura 8) e através deste, em sentido transversal (figura 9), a amostra foi obtida medindo aproximadamente 1mm de espessura por 3mm de largura e 4mm de comprimento (figura 10).

As amostras (n=140) foram armazenadas em água de torneira, para evitar ressecamento e não inviabilizar a futura avaliação quanto à remoção de *smear layer*. Evidentemente, as amostras de dentes expostos e não expostos à placa foram armazenados em recipientes distintos.

## Tratamento das amostras

Foram escolhidas para este estudo substâncias utilizadas em estudos anteriores<sup>14, 34, 58</sup> nos parâmetros estabelecidos quanto à concentração, modo (figura 11) e tempo de aplicação de cada substância. Assim sendo, foi utilizado o cloridrato de tetraciclina (TTC HCL), adquirido em farmácia de manipulação (Farmácia Santa Paula- Araraquara-SP), uma semana antes do início do experimento, na concentração de 50mg/mL, aplicado por fricção vigorosa com auxílio de uma bolinha de algodão, por 3 minutos. O ácido cítrico foi manipulado na Faculdade de Farmácia e Bioquímica-UNESP, um dia antes do experimento, na concentração de 25% e aplicado com auxílio de pincel (fricção suave) por 3 minutos, e na concentração de 1%, aplicado com auxílio de pincel (fricção suave) por 1 minuto. Por fim, o EDTA foi manipulado em farmácia de manipulação (Farmácia Santa Paula- Araraquara-SP), na concentração de 24%, na forma de gel e aplicado com auxílio de pincel (fricção suave) por 3 minutos. O TTC HCl, em forma de pó, foi acondicionado em cápsulas com a quantidade de 50mg, sendo diluído em 1mL de água destilada, medido com auxílio de uma pipeta automática (Boeco®). Esta diluição foi realizada em pequenos Beckers (Pyrex®), sendo homogeneizadas com uma haste de acrílico, minutos antes de sua aplicação nas amostras.

As amostras foram divididas em 4 grupos (I, II, III, IV) e estes subdivididos (A, B, C, D) de acordo com a exposição ou não à placa e o tratamento empregado. Para cada substância específica foram utilizadas 10 amostras totalizando 40 amostras por grupo. Também cada grupo teve seu próprio grupo controle (soro fisiológico), no entanto, visando racionalizar a quantidade de dentes utilizados, o grupo controle utilizado para o ácido cítrico 25% foi o mesmo para o EDTA 24% (20 amostras) porque estas substâncias foram aplicadas da mesma forma e pelo mesmo tempo. Para aferição do tempo de aplicação e da necessidade de

renovação das substâncias testadas foi utilizado um cronômetro eletrônico.

A divisão dos grupos conforme o tratamento empregado está mostrado abaixo:

Grupo I-A: aplicação de solução salina (controle) por fricção vigorosa, com auxílio de bolinhas de algodão, durante 3 minutos, em dentes não expostos à placa bacteriana;

Grupo I-B: aplicação de solução salina (controle) por fricção vigorosa, com auxílio de bolinhas de algodão, durante 3 minutos, em dentes expostos à placa bacteriana;

Grupo I-C: condicionamento com solução de cloridrato de tetraciclina 50mg/mL, aplicada por fricção vigorosa com auxílio de bolinhas de algodão, durante 3 minutos em dentes não expostos à placa bacteriana;

Grupo I-D: condicionamento com solução de cloridrato de tetraciclina 50mg/mL, aplicada por fricção vigorosa com auxílio de bolinhas de algodão, durante 3 minutos em dentes expostos à placa bacteriana;

Grupo II-A: aplicação de solução salina (controle) por fricção suave, com auxílio de pincel durante 3 minutos, em dentes não expostos à placa bacteriana;

Grupo II-B: aplicação de solução salina (controle) por fricção suave, com auxílio de pincel durante 3 minutos, em dentes expostos à placa bacteriana;

Grupo II-C: condicionamento com solução de ácido cítrico 25%, aplicado por fricção suave com auxílio de pincel, durante 3 minutos, em dentes não expostos à placa bacteriana;

Grupo II-D: condicionamento com solução de ácido cítrico 25%, aplicado por fricção suave com auxílio de pincel, durante 3 minutos, em dentes expostos à placa bacteriana;

Grupo III-A: aplicação de solução salina (controle) por fricção suave com auxílio de pincel, durante 1 minuto, em dentes não expostos à placa bacteriana;

Grupo III-B: aplicação de solução salina (controle) por fricção suave com auxílio de pincel durante 1 minuto, em dentes expostos à placa bacteriana;

Grupo III C: condicionamento com solução de ácido cítrico 1%, aplicado por fricção suave com auxílio de pincel durante 1 minuto, em dentes não expostos à placa bacteriana;

Grupo III-D: condicionamento com solução de ácido cítrico 1%, aplicado por fricção suave com auxílio de pincel durante 1 minuto, em dentes expostos à placa bacteriana;

Grupo IV-A: aplicação de solução salina (controle) por fricção suave com auxílio de pincel, durante 3 minutos, em dentes não expostos à placa bacteriana;

Grupo IV-B: aplicação de solução salina (controle) por fricção suave com auxílio de pincel, durante 3 minutos, em dentes expostos à placa bacteriana;

Grupo IV-C: condicionamento com de gel de EDTA 24%, aplicado por fricção suave com auxílio de pincel, durante 3 minutos, em dentes não expostos à placa bacteriana;

Grupo IV-D: condicionamento com de gel de EDTA 24%, aplicado por fricção suave com auxílio de pincel, durante 3 minutos, em dentes expostos à placa bacteriana.

Após o condicionamento das superfícies, todas as amostras foram irrigadas com 10mL de água destilada utilizando uma seringa descartável de 10 mL (Becton Dickinson, São Paulo-SP), para remoção dos agentes condicionadores. A tabela 1 exemplifica o tratamento realizado em cada um dos grupos.

Além de verificar a remoção ou não de *smear layer* com uso de diferentes agentes químicos, foi também objetivo do estudo a visualização da possível exposição de fibras colágenas da superfície radicular. Sendo assim, após o tratamento químico das amostras foi realizado o método proposto por Tay et al.<sup>64</sup> (2000). Para isso as 10 amostras de cada subgrupo foram armazenadas em cassetes codificados de acordo com o tratamento químico recebido. Estes foram colocados em uma placa de Petri (Pyrex®) onde as amostras foram submetidas à desidratação pela passagem por uma série crescente de álcool etílico (30, 50, 70, 80, 95 e 100%) (figura 12). Em cada concentração de álcool, as amostras permaneceram submersas por uma hora. Esta desidratação é necessária para a aplicação do etanol-hexametildisilazane (HMDS) (Sigma, Sigma-Aldrich Inc., St.Louis,USA), substância fundamental para visualizar a exposição de fibras colágenas.

A aplicação do HMDS foi realizada numa placa de acrílico contendo 24 orifícios (figura 13). As amostras, devidamente codificadas, foram retiradas dos cassetes e mergulhadas nos orifícios contendo 750µL de HMDS + 750µL de álcool absoluto medidos com pipeta automática (Boeco, Hamburg, Germany), onde permaneceram por 30 minutos.

Decorrido este tempo, as amostras foram transferidas para os orifícios restantes preenchidos com 1mL de HMDS puro, onde permaneceram por 10 minutos. Toda a manipulação do HMDS foi realizada com a capela de ventilação acionada, do laboratório de histologia da Disciplina de Periodontia-FOAr-UNESP, devido às propriedades cancerígenas do material.

Finalizada a aplicação do HMDS, as amostras foram recolocadas em seus respectivos cassetes, os quais foram colocados na placa de Petri tampada e forrada com papel filtro, com intuito de absorver o produto utilizado (HMDS).

Tabela 1- Distribuição dos grupos de acordo com o tratamento empregado

Grupos		Tipo de dente	Tratamento Empregado	Forma de aplicação	Tempo de aplicação
I	A	CNEP	Solução Salina	Bolinha de algodão	3 minutos
	B	CEP	Solução Salina	Bolinha de algodão	3 minutos
	C	NEP	Cloridrato de Tetraciclina 50mg/mL	Bolinha de algodão	3 minutos
	D	EP	Cloridrato de Tetraciclina 50mg/mL	Bolinha de algodão	3 minutos
II	A	CNEP	Solução Salina	Pincel	3 minutos
	B	CEP	Solução Salina	Pincel	3 minutos
	C	NEP	Ácido Cítrico 25%	Pincel	3 minutos
	D	EP	Ácido Cítrico 25%	Pincel	3 minutos
III	A	CNEP	Solução Salina	Pincel	1 minuto
	B	CEP	Solução Salina	Pincel	1 minuto
	C	NEP	Ácido Cítrico 1%	Pincel	1 minuto
	D	EP	Ácido Cítrico 1%	Pincel	1 minuto
IV	A	CNEP	Solução Salina	Pincel	3 minutos
	B	CEP	Solução Salina	Pincel	3 minutos
	C	NEP	EDTA 24%	Pincel	3 minutos
	D	EP	EDTA 24%	Pincel	3 minutos

Legenda: Controle em dentes não expostos à placa (CNEP); Controle em dentes expostos a placa (CEP);  
Dentes não expostos à placa (NEP); Dentes expostos à placa (EP).

### **Avaliação das amostras em microscopia eletrônica de varredura**

Passadas 24 horas do condicionamento radicular, as amostras foram coladas com esmalte incolor misturado a grafite em pó em suportes metálicos (“stubs”) específicos (figura 14) para avaliação ao MEV. Os “stubs” foram levados a um dessecador a vácuo (figura 15) por 24 horas para completa remoção da umidade e preservação até a metalização. Na sequência, as amostras foram metalizadas (figura 16) com auxílio de um aparelho metalizador (Balt-Tec SCD-050, Flórida, USA) por recobrimento com liga de ouro-paládio (99,99% de pureza) durante 120 segundos. Este passo é necessário para que se consiga a transmissão de elétrons sobre a superfície da amostra.

Após a metalização, as amostras foram levadas para observação em MEV (Jeol-JSM T330-A, JEOL Technics Co., Tokyo, Japan) com a obtenção das fotomicrografias em filmes Neopan Acros (Fuji Film 120 SS, Tokyo, Japan), nos aumentos de 1500X e 3500X. Com o objetivo de reduzir a possibilidade de tendenciosidade do estudo, as fotomicrografias foram realizadas na região central de cada amostra.



FIGURA 1- Dente exposto à placa bacteriana.



FIGURA 2- Dente não exposto à placa bacteriana.



FIGURA 3- Demarcação do 1º sulco.



FIGURA 4- Demarcação do 2º sulco, 4mm apical ao 1º .



FIGURA 5- Área de trabalho.



FIGURA 6- Raspagem e alisamento radicular.



FIGURA 7- Coroa seccionada na altura do 1º sulco.



FIGURA 8- Corte longitudinal ao longo eixo do dente, separando as faces preparadas.



FIGURA 9- Corte transvesal ao longo eixo do dente na altura do 2º sulco.



FIGURA 10- Espécimes obtidos.

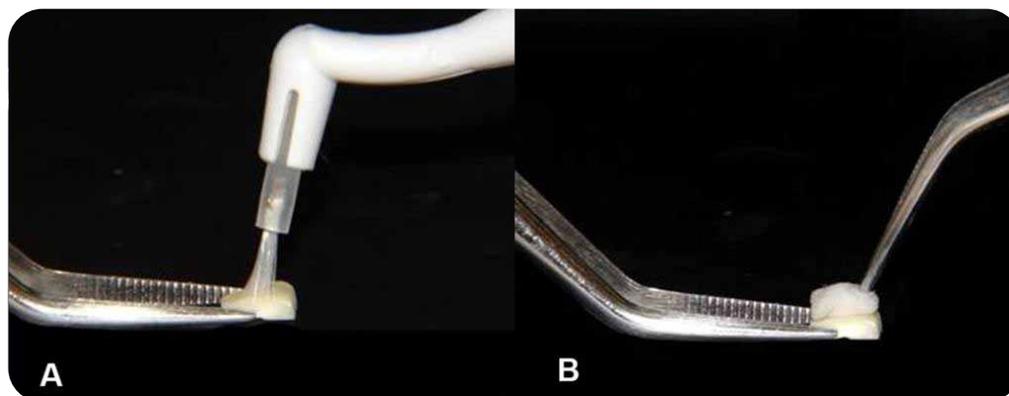


FIGURA 11- Modos de aplicação. A) Aplicação por fricção suave (pincel); B) Aplicação por fricção vigorosa (bolinha de algodão).

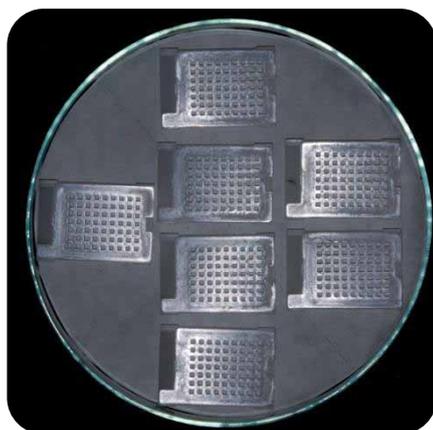


FIGURA 12- Desidratação em concentrações crescentes de álcool.



FIGURA 13- Placas de acrílico codificadas para a aplicação do HMDS.



FIGURA 14- Amostras tratadas coladas em "stubs" metálicos.



FIGURA 15- Dessecador a vácuo.



FIGURA 16- Amostras metalizadas.

### **Análise das fotomicrografias**

As fotomicrografias obtidas foram avaliadas por um único examinador cego, treinado e calibrado (KAPPA 0,73). Foram realizadas 3 avaliações de cada fotomicrografia, com um intervalo de 15 dias entre cada avaliação (anexo 3). Quando houve discordância entre os scores, o mais freqüente foi utilizado. Para determinar os graus de remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas em cada fotomicrografia foi utilizado o índice de biomodificação radicular, descrito abaixo:

### **Índice de Biomodificação Radicular**

Grau 1: Superfície radicular sem *smear layer* com exposição de cimento e/ou dentina e/ou fibras colágenas (figuras 17 e 18).

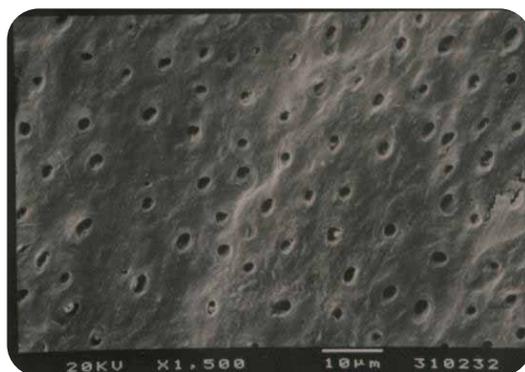


FIGURA 17- Fotomicrografia com aumento de 1500 X representando o grau 1.

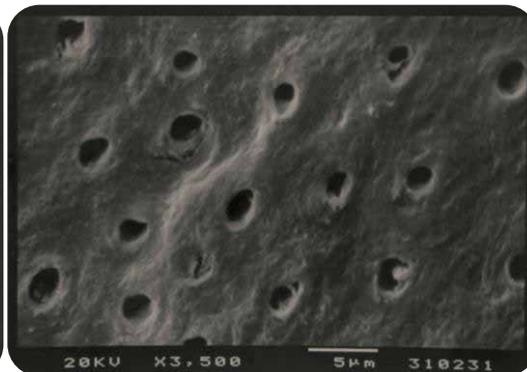


FIGURA 18- Fotomicrografia com aumento de 3500 X representando o grau 1.

Grau 2: Superfície radicular com índicos de abertura de túbulos dentinários (figuras 10 e 20).

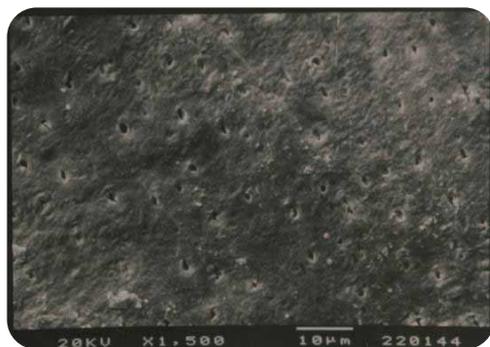


FIGURA 19- Fotomicrografia com aumento de 1500 X representando o grau 2.

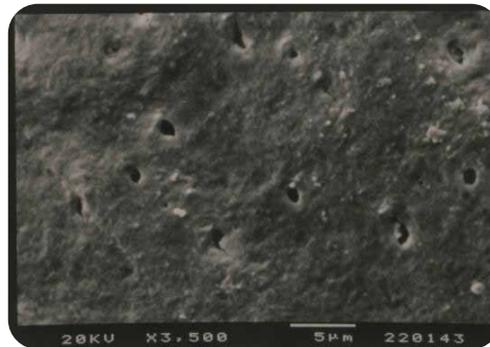


FIGURA 20- Fotomicrografia com aumento de 3500 X representando o grau 2.

Grau 3: Superfície radicular com presença de *smear layer* obliterando os túbulos dentinários (figuras 21 e 22).

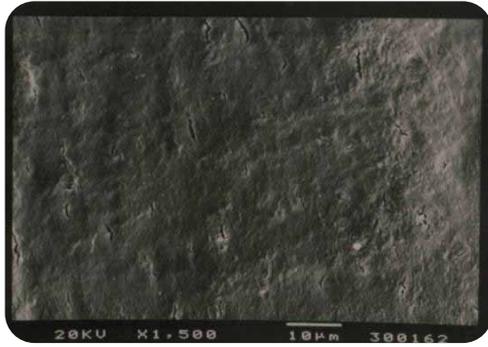


FIGURA 21- Fotomicrografia com aumento de 1500 X representando o grau 3.

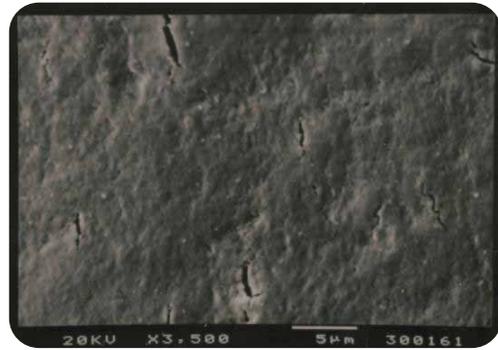


FIGURA 22- Fotomicrografia com aumento de 3500 X representando o grau 3.

Grau 4: Superfície radicular com presença de hiperdesmineralização (figuras 23 e 24).

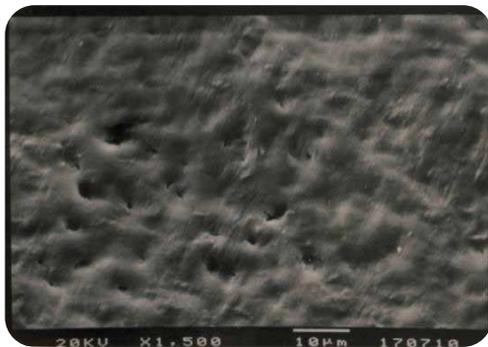


FIGURA 23- Fotomicrografia com aumento de 1500 X representando o grau 4.

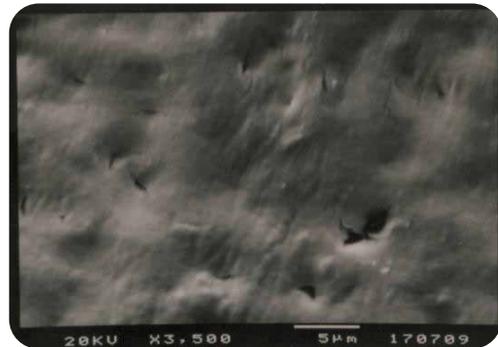


FIGURA 24- Fotomicrografia com aumento de 3500 X representando o grau 4.

### Análise Estatística

A análise estatística foi realizada comparando a frequência dos escores obtidos para os diferentes condicionamentos radiculares em dentes expostos e não expostos à placa. Foi utilizado o teste não

paramétrico de Mann-Whitney, aplicado com nível de significância de 95%.

**RESULTADO**

---

---

## Resultado

A Tabela 2 (Anexo 4) ilustra a distribuição dos escores em todas as amostras avaliadas neste estudo.

No gráfico 1 estão representadas as amostras de dentes expostos à placa bacteriana que receberam condicionamento químico com diferentes substâncias ou apenas solução salina. Analisando este gráfico podemos observar que todas as amostras controle receberam escore 3 independente do tratamento empregado. Nas amostras testes foram encontradas 40% de escore 2 no grupo do cloridrato de tetraciclina e 30% no grupo do ácido cítrico 1%. As maiores freqüências de escore 4 foram observadas nos grupos EDTA teste (80%) e ácido cítrico 25% teste (70%).

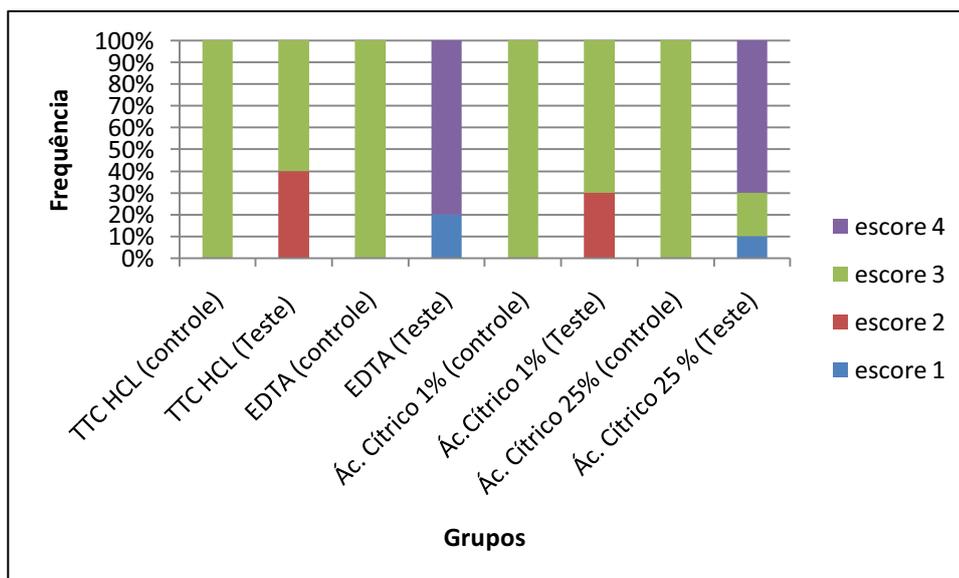


GRÁFICO 1- Distribuição da freqüência dos escores (1 a 4) para dentes expostos à placa bacteriana que receberam condicionamento químico com diferentes agentes condicionantes ou apenas solução salina (controle).

No gráfico 2 estão representadas as amostras de dentes não expostos à placa bacteriana que receberam condicionamento químico com diferentes substâncias ou apenas solução salina. Analisando este

gráfico podemos observar que todas as amostras controle receberam escore 3 independente do tratamento empregado, exceto para 1 amostra controle (10%) do grupo do ácido cítrico 25% que recebeu escore 2. Nas amostras testes foi encontrada uma freqüência de 80% de escore 2 nos grupos do cloridrato de tetraciclina e ácido cítrico 1%. Os grupos testes de EDTA e ácido cítrico 25% apresentaram uma freqüência de 100% de escore 4.

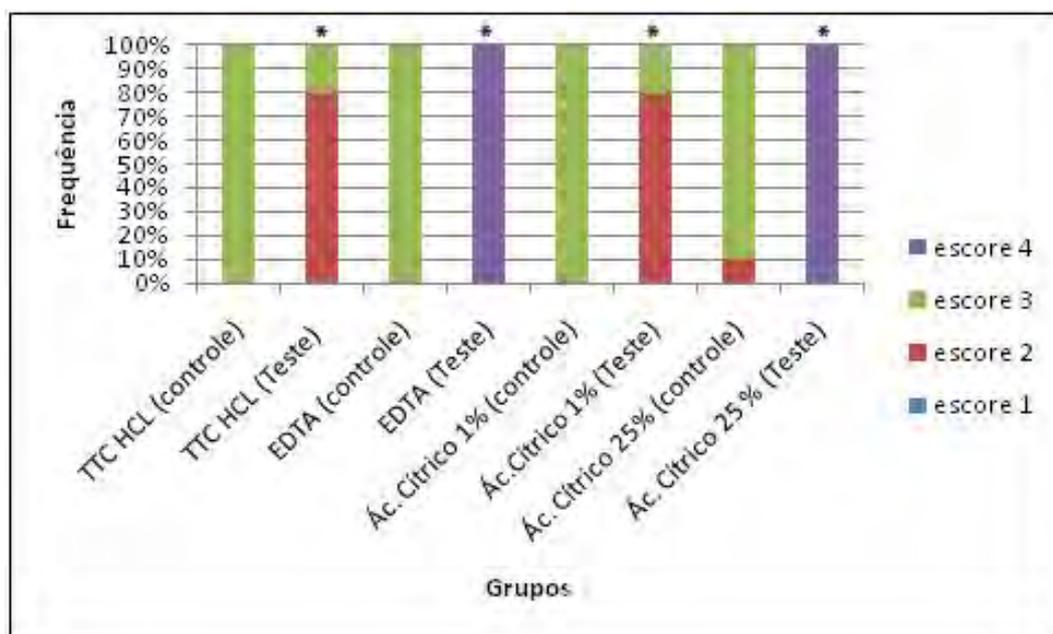


GRÁFICO 2- Distribuição da freqüência dos escores (1 a 4) para dentes não expostos à placa bacteriana que receberam condicionamento químico com diferentes agentes condicionantes ou apenas solução salina (controle).

\*Diferenças estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) após comparação intra-grupo das amostras teste e controle para cada agente condicionante (Teste de Mann-Whitney).

No gráfico 3 estão representadas as amostras de dentes expostos e não expostos a placa bacteriana que receberam condicionamento químico com diferentes substâncias (amostras testes). Analisando este gráfico podemos observar que uma maior freqüência de escore 2 foi encontrada nos grupos do cloridrato de tetraciclina (80%) e ácido cítrico 1% (80%) para amostras de dentes não expostos a placa (NEP).

Frequências menores de escore 2 foram encontradas nos grupos do cloridrato de tetraciclina (40%) e ácido cítrico 1% (30%) para amostras de dentes expostos a placa (EP). Uma frequência de 100% de escore 4 foi observada nos grupos do EDTA e ácido cítrico 25% para as amostras de dentes não expostos a placa (NEP). Uma grande frequência de escore 4 também foi observada em amostras de dentes expostos a placa (EP) nos grupos do EDTA (80%) e ácido cítrico 25% (70%).

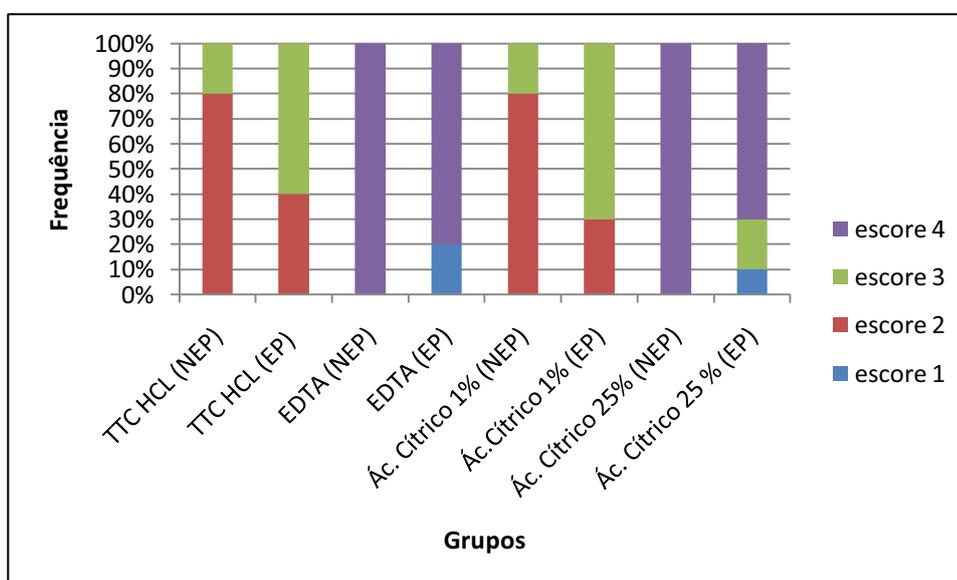


GRAFICO 3- Distribuição da frequência dos escores (1 a 4) para dentes expostos (EP) e não expostos à placa bacteriana (NEP) que receberam condicionamento químico com diferentes agentes condicionantes.

## **DISCUSSÃO**

---

---

## Discussão

Estudos utilizando agentes condicionadores para a superfície radicular apresentam uma grande variabilidade nos resultados devido a vários fatores que podem interferir negativamente no resultado final dos experimentos, tais como: 1) agente condicionador utilizado; 2) tipo de raspagem realizada (manual ou ultra-sônica), a qual pode interferir na quantidade de cálculo residual, rugosidade da superfície radicular<sup>33, 36, 63</sup> e tipo de *smear layer* criada<sup>55</sup>; 3) tempo de condicionamento da superfície radicular<sup>62</sup>; 4) modo de aplicação dos agentes condicionantes<sup>16</sup>; 5) concentração e pH utilizados<sup>10, 35</sup>; 6) possibilidade de diluição e inativação parcial da substância quando em contato com o sangue durante o procedimento cirúrgico<sup>55</sup>; 7) modo de preparo das amostras e das substâncias; 8) falta de padronização de um índice universal para avaliar o grau de remoção de *smear layer*; 9) e, possivelmente, o grau de hipermineralização do dente<sup>24, 72</sup>.

Em relação ao agente condicionador utilizado, um dos primeiros agentes a ser utilizado foi o ácido cítrico. Cogen et al.<sup>17</sup> 1983 em um estudo in vitro verificou que não ocorria inserção e crescimento de fibroblastos sobre a raiz quando esta era apenas raspada, mas que quando era utilizada a raspagem juntamente com o condicionamento químico (ácido cítrico por 3 minutos), ocorria inserção e crescimento de fibroblastos. Outros estudos verificaram as vantagens de um condicionamento químico da superfície radicular com ácido cítrico<sup>32, 40</sup>, quando comparados com grupos controle, os quais eram apenas raspados. O entusiasmo científico ao redor do ácido cítrico começou a ser questionado quando estudos analisaram seu potencial efeito necrosante, devido ao seu baixo pH (acidez)<sup>39</sup>. Assim outras substâncias começaram a ser testadas, na tentativa de se conseguir um agente ideal para o condicionamento químico da superfície radicular. O cloridrato de tetraciclina foi então estudado e muitas características favoráveis foram

observadas. Estudos realizados in vitro, mostraram aumento da união de uma glicoproteína (fibronectina) à dentina, estimulando a proliferação e adesão de fibroblastos, como também promoveu supressão da inserção e do crescimento das células epiteliais<sup>35, 66</sup>. Outras propriedades observadas foram: atividade anticlagenase<sup>26</sup>; inibição da função de osteoclastos<sup>28</sup> e da função neutrofílica<sup>23</sup>, bem como, eficiente substantividade<sup>6, 35</sup>. Porém, os efeitos adversos da utilização da tetraciclina também foram verificados. Nalbandian<sup>46</sup> (1978) verificou que a tetraciclina administrada sistemicamente ficou impregnada na dentina e cemento trazendo como conseqüência a formação de lacunas onde foi observada falta de inserção de tecido conjuntivo e cárie de raiz. Hanes et al.<sup>29</sup> (1991), verificou a limitada capacidade de remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas quando da utilização do cloridrato de tetraciclina em adição à raspagem da superfície radicular. Além disso, o cloridrato de tetraciclina apresenta pH ácido, existindo uma relação inversamente proporcional entre o pH e a concentração da solução. Isto é significativo, pois pode interferir na viabilidade celular<sup>2</sup> e nos eventos iniciais do processo de cicatrização periodontal<sup>11, 69</sup>.

Após alguns resultados negativos com a utilização de agentes como ácido cítrico e cloridrato de tetraciclina, devido a seus baixos pHs e possível necrose de tecido gengival, um agente de pH neutro parecia ser a solução. Assim, o EDTA ganhou espaço em estudos como os de Blomlof, Lindskog<sup>11</sup> (1995), Ciancio<sup>15</sup> (1998), que compararam esse agente aos ácidos cítrico e fosfórico, mostrando não induzir nenhuma necrose detectável durante o experimento, não produzindo, portanto, efeitos adversos quanto à viabilidade celular. Além disso, este agente foi mais eficiente na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas da dentina e cemento<sup>15</sup>. Quando o EDTA parecia mesmo ser o agente ideal para ser usado na biomodificação, por seu pH neutro e grande capacidade quelante na remoção de íons cálcio, remoção de

*smear layer* e exposição de fibras colágenas, uma nova metodologia começou a ser utilizada: a adesão de elementos sanguíneos sobre a raiz previamente condicionada, visando simular em estudos *in vitro* o mais próximo do que ocorreria *in vivo*. Assim, o EDTA começava a mostrar também seus efeitos adversos, pois este agente sendo um forte quelante de íons cálcio, pode dificultar ou até inibir o primeiro passo para a tentativa de regeneração/reparação periodontal, que é a formação do coágulo, pois esse íon é necessário para o começo da cascata de coagulação. Por outro lado, ele é um agente anticoagulante e pode interferir na formação do coágulo na superfície radicular condicionada<sup>5, 7, 42</sup>.

Conhecidas as características individuais, vantagens e limitações de cada um destes agentes condicionadores, estudos posteriores foram realizados com o objetivo de padronizar o tempo, o modo de aplicação, a concentração e o pH utilizados para cada um deles. Após alguns estudos<sup>14, 34, 58</sup> foram obtidos os parâmetros considerados ideais: ácido cítrico 25%, aplicado com auxílio de pincel (aplicação ativa suave), por 3 minutos<sup>14</sup>; cloridrato de tetraciclina 50mg/mL<sup>34</sup>, aplicado por fricção com auxílio de bolinha de algodão (aplicação ativa vigorosa), durante 3 minutos; EDTA 24% na forma de gel, aplicado com auxílio de pincel, por 3 minutos<sup>58</sup>. Portanto, estes foram os parâmetros escolhidos e utilizados para o presente estudo.

Outro fator a ser considerado é o tipo de raspagem utilizada, manual ou ultra-sônica, a qual pode influenciar no resultado final dos estudos que utilizam condicionamento radicular devido a: quantidade de cálculo residual, rugosidade da superfície radicular<sup>33, 36, 63</sup> e tipo de *smear layer* criada<sup>55</sup>. Porém no presente estudo foi utilizada apenas a raspagem manual com 50 golpes de cureta no sentido ápico-cervical, sem remoção total do cemento com auxílio de brocas, visando aproximar *in vitro* o que ocorreria *in vivo*.

O modo de preparo das amostras e das substâncias obedeceu, no presente estudo, à mesma metodologia já estudada para o preparo das amostras em outros estudos<sup>14, 19-20, 34, 42, 58</sup>, e com intuito de diminuir as possíveis diferenças no preparo das substâncias, estas foram preparadas nos mesmos locais de estudos anteriores<sup>14, 34, 58</sup>: ácido cítrico 1% e 25% (Faculdade de Farmácia e Bioquímica-Unesp, Araraquara, São Paulo); cloridrato de tetraciclina a 50mg/mL e gel de EDTA 24% (Farmácia Santa Paula, Araraquara, São Paulo).

Em relação à falta de padronização de um índice universal para o grau de remoção de *smear layer*, o presente estudo propôs outro índice para avaliar a remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas da matriz dentinária ou cementária. Tal fato pode ser explicado, pois estudos anteriores<sup>14, 34, 55, 58</sup> que utilizaram o Índice de Sampaio proposto em 1999 apresentavam uma diferença metodológica durante o preparo das amostras, onde após a demarcação da área de trabalho com broca cilíndrica em alta rotação (nº 2135-KG SORENSEN, Barueri-SP), o cimento radicular nesta área era removido com auxílio destas brocas visto que um estudo de Coldiron et al.<sup>18</sup> (1990) mostraram por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV) que 70 movimentos de raspagem e alisamento radicular com instrumentos manuais não foram capazes de remover completamente o cimento e que este apresenta-se muito semelhante estruturalmente a dentina quando observados em MEV, o que poderia dificultar a avaliação das fotomicrografias. Deste modo, após o condicionamento radicular, nos estudos anteriores<sup>14, 34, 55, 58</sup>, os quais removiam o cimento radicular com brocas, era mais fácil a visualização de fibras colágenas em MEV. Porém, no presente estudo, visando aproximar in vitro o que ocorreria in vivo, a área de trabalho escolhida da superfície radicular foi apenas raspada e alisada com curetas e o cimento radicular não foi removido com auxílio de brocas.

O Índice de Biomodificação Radicular proposto para o presente estudo apresenta 4 escores: grau 1- Amostra sem *smear layer* com exposição de cimento e/ou dentina e/ou fibras colágenas, o que sugere amostras “limpas”, independentes da visualização de fibras colágenas, pois esta visualização foi dificultada em virtude da metodologia proposta, a qual não retirou o cimento com auxílio de brocas; grau 2- Amostra com indícios de abertura de túbulos dentinários, o que também sugere uma amostra “limpa”, apesar da não exposição de fibras colágenas; grau 3- Amostra com presença de *smear layer* obliterando os túbulos dentinários, ou seja, amostras em que o agente condicionador utilizado não foi capaz de deixá-las “limpas”; grau 4- amostras com presença de hiperdesmineralização, que segundo estudos prévios<sup>16, 45</sup> apresenta-se como uma camada sugestiva de uma *smear layer* recobrindo a superfície dental, em que agentes condicionadores, por algum motivo, promoveram uma desorganização da superfície radicular.

Em relação à hipótese proposta pelo presente estudo, o grau de hipermineralização do dente poderia estar influenciando nos resultados controversos encontrados na literatura a respeito da biomodificação radicular. Desse modo, dependendo do tempo que o dente estivesse exposto à placa bacteriana na cavidade bucal, este poderia ter um aumento em seu grau de mineralização (hipermineralização)<sup>24, 72</sup>, tornando mais difícil sua desmineralização e, conseqüentemente, sua descontaminação. O contrário também seria verdadeiro, em que dentes jovens, ou seja, sem exposição à placa bacteriana (dentes inclusos) ou com pouco tempo de exposição seriam, mais facilmente desmineralizados e descontaminados.

Em relação aos resultados da presente pesquisa podemos observar na tabela 2 (Anexo 4) que todas as amostras que receberam aplicação de solução salina (controle), independente de serem amostras de dentes expostos ou não expostos à placa bacteriana, receberam

escore 3, ou seja, a solução salina não foi eficiente na remoção de *smear layer*, corroborando diversos estudos<sup>3, 14, 31, 34, 54, 58</sup>. Apenas 1 amostra controle de dentes não expostos à placa, pertencente ao grupo do ácido cítrico 25% obteve escore 2. Fato que não poderia ter ocorrido, mas provavelmente foi possível por se tratar de uma amostra de um dente não exposto à placa bacteriana, em que apenas a aplicação da solução salina de forma ativa suave (pincel) foi suficiente para remover a *smear layer* criada.

Seguindo esta mesma tabela 2 (Anexo 4) também podemos observar que a maioria das amostras condicionadas com ácido cítrico 25% e gel de EDTA 24% receberam escore 4 (hiperdesmineralização), independente de serem amostras expostas ou não à placa bacteriana. Estes resultados comprovam a forte capacidade desmineralizante do ácido cítrico 25% e do gel de EDTA 24% encontrados em outros estudos<sup>14, 58</sup>. Talvez um novo fator esteja influenciando nos resultados que seria a força empregada na aplicação das substâncias. Em todo o estudo, apenas 3 amostras receberam escore 1. Destas, duas amostras foram condicionadas com gel de EDTA 24% e uma amostra foi condicionada com ácido cítrico 25%, provando mais uma vez a grande capacidade desmineralizante destes agentes. Além disto, estas 3 amostras eram de dentes expostos à placa, sugerindo que eram dentes mais difíceis de desmineralizar.

Segundo o gráfico 1, para dentes expostos à placa bacteriana, ou seja, possivelmente com maior grau de hipermineralização, agentes considerados com menor potencial desmineralizante como o cloridrato de tetraciclina e o ácido cítrico 1% obtiveram apenas algumas amostras com escore 2, sendo 40% para o grupo da tetraciclina e 30% para o grupo do ácido cítrico 1%. Entretanto, agentes com maior potencial desmineralizante, como o ácido cítrico 25% e o gel de EDTA 24% causaram hiperdesmineralização (escore 4) da maioria das amostras,

sendo 70% para o grupo do ácido cítrico na concentração de 25% e 80% para o grupo do EDTA 24%. Estes resultados sugerem que agentes como EDTA 24% e ácido cítrico 25% são capazes de desorganizar a estrutura radicular, enquanto que agentes considerados mais fracos em relação ao seu poder desmineralizante, como o cloridrato de tetraciclina e o ácido cítrico 1%, são capazes de desmineralizar dentes supostamente hipermineralizados apenas em um número reduzido de amostras.

O gráfico 2, ilustra os resultados dos agentes condicionadores e da solução salina (controle) aplicados sobre dentes não expostos à placa bacteriana. O ácido cítrico 25% e gel de EDTA 24% que já haviam desmineralizado (escore 4) amostras supostamente mais hipermineralizadas (dentes expostos à placa), também hiperdesmineralizaram (escore 4) amostras supostamente menos hipermineralizadas (dentes não expostos à placa), mas com uma frequência maior (100%) neste tipo de amostra. No entanto, a diferença encontrada nas amostras condicionadas com cloridrato de tetraciclina e o ácido cítrico 1% foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) em relação às respectivas soluções controle, sugerindo maior facilidade de remoção de *smear layer* em amostras de dentes não expostos à placa bacteriana.

Finalmente analisando o gráfico 3, podemos confirmar esta última sugestão. Neste gráfico são comparadas apenas as amostras que receberam aplicação de agentes condicionadores. Para as amostras condicionadas com gel de EDTA 24% e ácido cítrico 25% não houve diferenças estatisticamente significantes entre dentes expostos e não expostos à placa, pois a forte capacidade desmineralizadora destes agentes resultou em hiperdesmineralização de quase todas as amostras (escore 4), independente da possível diferença de hipermineralização destas amostras. Em relação ao cloridrato de tetraciclina, 80% das amostras de dentes não expostos à placa (NEP) condicionadas com este agente receberam escore 2, enquanto apenas 40% das amostras de

dentes expostos à placa (EP) receberam este mesmo escore 2. Resultado semelhante foi observado no grupo do ácido cítrico 1%, onde 80% das amostras de dentes não expostos à placa (NEP) recebeu escore 2 e apenas 30% das amostras de dentes expostos à placa (EP) recebeu este mesmo escore 2. Apesar de não ter havido diferenças estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ), houve uma tendência a dentes não expostos à placa, ou seja, supostamente menos hipermineralizados, a apresentarem melhor grau de remoção de *smear layer* (escore 2), quando comparados a dentes expostos à placa bacteriana, ou seja, supostamente hipermineralizados (escore 3). Estes resultados sugerem que dentes com suposto menor grau de hipermineralização (dentes não expostos à placa bacteriana) seriam mais facilmente desmineralizados e descontaminados, que dentes supostamente hipermineralizados (dentes expostos a placa bacteriana).

Assim sendo, após a discussão de todos os possíveis fatores que interferem nos resultados controversos encontrados na literatura sobre o condicionamento radicular, acreditamos que a biomodificação radicular seja um procedimento difícil de ser alcançado, porém também acreditamos que ela deva ser utilizada para pelo menos auxiliar na descontaminação da superfície radicular como coadjuvante da raspagem e aplainamento radicular.

## **CONCLUSÃO**

---

---

## Conclusão

Considerando as limitações metodológicas e os resultados obtidos, podemos concluir que:

- A solução controle foi ineficaz na remoção de *smear layer* e exposição de fibras colágenas;
- A solução de ácido cítrico 25% e de gel de EDTA 24% promoveram hiperdesmineralização da maioria das amostras, tanto em dentes expostos como não expostos à placa bacteriana;
- As soluções de ácido cítrico 1% e cloridrato de tetraciclina 50mg/mL foram as mais eficazes em remover *smear layer*, sendo as responsáveis pelo maior número de amostras com escore 2, principalmente em dentes não expostos à placa.
- Houve uma tendência a dentes não expostos à placa bacteriana a apresentarem maior facilidade de remoção de *smear layer* quando comparados a dentes expostos à placa bacteriana, para amostras condicionadas com cloridrato de tetraciclina e o ácido cítrico 1%.

## REFERÊNCIAS

---

---

## Referências

1. Adriaens PA, De Boever JA, Loesche WJ. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. A reservoir of periodontopathic bacteria. *J Periodontol.* 1988; 59: 222-30.
2. Alger FA, Solt CW, Vuddhakanok S, Miles K. The histologic evaluation of new attachment in periodontally diseased human roots treated with tetracycline-hydrochloride and fibronectin. *J Periodontol.* 1990; 61: 447-55.
3. Babay N. SEM study on the effect of two different demineralization methods with saturated tetracycline hydrochloride on diseased root surfaces. *J Contemp Dent Pract.* 2001; 2: 25-35.
4. Babay N. The effect of tetracycline hydrochloride on the attachment of gingival fibroblasts. A scanning electron microscopic study on the effect of ultrasonic scaling before root conditioning. *Odontostomatol Trop.* 2002; 25: 13-7.
5. Baker DL, Stanley Pavlow SA, Wikesjo UM. Fibrin clot adhesion to dentin conditioned with protein constructs: an in vitro proof-of-principle study. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 561-6.
6. Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ. Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol.* 1983; 54: 580-5.
7. Baker PJ, Rotch HA, Trombelli L, Wikesjo UM. An in vitro screening model to evaluate root conditioning protocols for periodontal regenerative procedures. *J Periodontol.* 2000; 71: 1139-43.

**\*De acordo com o estilo Vancouver**

**Disponível no site: [HTTP://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)**

8. Bal B, Eren K, Balos K. Effects of various root surface treatments on initial clot formation: a scanning electron microscope study. *J Nihon Univ Sch Dent.* 1990; 32: 281-93.
9. Bergenholtz A, Babay N. Scanning electron microscopy of the root surface texture of extracted periodontally diseased teeth following various etching and chelating regimens. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1998; 18: 171-9.
10. Blomlof J, Blomlof L, Lindskog S. Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis-affected root surfaces. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 534-7.
11. Blomlof J, Lindskog S. Periodontal tissue-vitality after different etching modalities. *J Clin Periodontol.* 1995; 22: 464-8.
12. Bouchard P, Nilveus R, Etienne D. Clinical evaluation of tetracycline HCl conditioning in the treatment of gingival recessions. A comparative study. *J Periodontol.* 1997; 68: 262-9.
13. Carvalho Batista LH, Cezar Sampaio JE, Pilatti GL, Shibli JA. Efficacy of EDTA-T gel for smear layer removal at root surfaces. *Quintessence Int.* 2005;36: 551-8.
14. Cavassim R. Avaliação in vitro de diferentes concentrações, tempos e modos de aplicação do ácido cítrico na biomodificação radicular. Análise por meio de microscopia eletrônica de varredura [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

15. Ciancio S. Biological therapies in dentistry. Decker Periodicals 1998; 14: 1-4.
16. Codelli GR, Fry HR, Davis JW. Burnished versus nonburnished application of citric acid to human diseased root surfaces: the effect of time and method of application. Quintessence Int. 1991; 22: 277-83.
17. Cogen RB, Garrison DC, Weatherford TW. Effect of various root surface treatments on the viability and attachment of human gingival fibroblasts. J Periodontol. 1983; 54: 277-82.
18. Coldiron NB, Yukna RA, Weir J, Caudill RF. A quantitative study of cementum removal with hand curettes. J Periodontol. 1990; 61: 293-9.
19. Dantas AAR. Remoção de *smear layer* de superfícies radiculares utilizando diferentes concentrações, modos e tempos de aplicação de cloridrato de tetraciclina. Análise por meio de microscopia eletrônica de varredura [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2003.
20. Dantas AAR. Efeito do condicionamento radicular com diferentes agentes para a adesão de Plasma Rico em Plaquetas e de Células Sangüíneas. Estudo in vitro. [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.
21. Fardal O, Lowenberg BF. A quantitative analysis of the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts to human dental root surfaces in vitro. J Periodontol. 1990; 61: 529-35.

22. Fine DH, Morris ML, Tabak L, Cole JD. Preliminary characterization of material eluted from the roots of periodontally diseased teeth. *J Periodontal Res.* 1980; 15: 10-9.
23. Gabler WL, Creamer HR. Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines. *J Periodontal Res.* 1991; 26: 52-8.
24. Garrett JS, Crigger M, Egelberg J. Effects of citric acid on diseased root surfaces. *J Periodontal Res.* 1978; 13: 155-63.
25. Giuliana G, Ammatuna P, Pizzo G, Capone F, D'Angelo M. Occurrence of invading bacteria in radicular dentin of periodontally diseased teeth: microbiological findings. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 478-85.
26. Golub LM, Ramamurthy N, McNamara TF, Gomes B, Wolff M, Casino A, et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. A new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1984; 19: 651-5.
27. Golub LM, Wolff M, Roberts S, Lee HM, Leung M, Payonk GS. Treating periodontal diseases by blocking tissue-destructive enzymes. *J Am Dent Assoc.* 1994; 125: 163-9.
28. Gomes BC, Golub LM, Ramamurthy NS. Tetracyclines inhibit parathyroid hormone-induced bone resorption in organ culture. *Experientia.* 1984; 40: 1273-5.
29. Hanes PJ, O'Brien NJ, Garnick JJ. A morphological comparison of radicular dentin following root planing and treatment with citric acid or tetracycline HCl. *J Clin Periodontol.* 1991; 18: 660-8.

30. Hanes PJ, Polson AM, Frederick GT. Initial wound healing attachments to demineralized dentin. *J Periodontol.* 1988; 59: 176-83.
31. 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.* 2003; 96: 340-4.
32. Higashi T, Okamoto H. The effect of ultrasonic irrigation before and after citric acid treatment on collagen fibril exposure: an in vitro SEM study. *J Periodontol.* 1995; 66: 887-91.
33. Hunter RK, O'Leary TJ, Kafrawy AH. The effectiveness of hand versus ultrasonic instrumentation in open flap root planing. *J Periodontol.* 1984; 55: 697-703.
34. Ishi EP, Dantas AA, Batista LH, Onofre MA, Sampaio JE. Smear layer removal and collagen fiber exposure using tetracycline hydrochloride conditioning. *J Contemp Dent Pract.* 2008; 9: 25-33.
35. Isik AG, Tarim B, Hafez AA, Yalcin FS, Onan U, Cox CF. A comparative scanning electron microscopic study on the characteristics of demineralized dentin root surface using different tetracycline HCl concentrations and application times. *J Periodontol.* 2000; 71: 219-25.
36. Jacobson L, Blomlof J, Lindskog S. Root surface texture after different scaling modalities. *Scand J Dent Res.* 1994; 102: 156-60.
37. Labahn R, Fahrenbach WH, Clark SM, Lie T, Adams DF. Root dentin morphology after different modes of citric acid and tetracycline hydrochloride conditioning. *J Periodontol.* 1992; 63: 303-9.

- 38.Lafferty TA, Gher ME, Gray JL. Comparative SEM study on the effect of acid etching with tetracycline HCl or citric acid on instrumented periodontally-involved human root surfaces. *J Periodontol.* 1993; 64: 689-93.
- 39.Lan WC, Lan WH, Chan CP, Hsieh CC, Chang MC, Jeng JH. The effects of extracellular citric acid acidosis on the viability, cellular adhesion capacity and protein synthesis of cultured human gingival fibroblasts. *Aust Dent J.* 1999; 44: 123-30.
- 40.Larjava H, Salonen J, Hakkinen L, Narhi T. Effect of citric acid treatment on the migration of epithelium on root surfaces in vitro. *J Periodontol.* 1988; 59: 95-9.
- 41.Lasho DJ, O'Leary TJ, Kafrawy AH. A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces. *J Periodontol.* 1983; 54: 210-20.
- 42.Leite FR, Moreira CS, Theodoro LH, Sampaio JE. Blood cell attachment to root surfaces treated with EDTA gel. *Braz Oral Res.* 2005; 19: 88-92.
- 43.Lopez NJ, Belvederessi M, de la Sotta R. Inflammatory effects of periodontally diseased cementum studied by autogenous dental root implants in humans. *J Periodontol.* 1980; 51: 582-93.
- 44.Lowenguth RA, Blieden TM. Periodontal regeneration: root surface demineralization. *Periodontol 2000.* 1993; 1 :54-68.

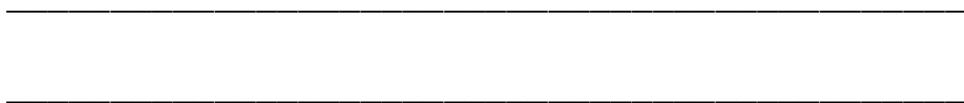
45. Mata AC. Avaliação do cloridrato de tetraciclina na remoção da “smear layer” radicular, em diferentes concentrações, tempos e modos de aplicação. Análise através de microscopia eletrônica de varredura [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2002.
46. Nalbandian J. The microscopic pattern of tetracycline fluorescence in the cementum of human teeth. *J Biol Buccale*. 1978; 6: 27-41.
47. Newman MG TH, Carranza FA. Carranza Periodontia clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004;899p.
48. Olson RH, Adams DF, Layman DL. Inhibitory effect of periodontally diseased root extracts on the growth of human gingival fibroblasts. *J Periodontol*. 1985; 56: 592-6.
49. Pilatti GL. Estudo "in vitro" da eficácia de um gel de Edta na remoção da "Smear Layer" da superfície radicular [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2001.
50. Polson AM, Frederick GT, Ladenheim S, Hanes PJ. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. *J Periodontol*. 1984; 55: 443-6.
51. Polson AM, Proye MP. Fibrin linkage: a precursor for new attachment. *J Periodontol*. 1983; 54: 141-7.
52. Register AA. Bone and cementum induction by dentin, demineralized in situ. *J Periodontol*. 1973; 44: 49-54.

53. Register AA, Burdick FA. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. I. Optimum range. *J Periodontol.* 1975; 46: 646-55.
54. Sampaio JE, Rached RS, Pilatti GL, Theodoro LH, Batista LH. Effectiveness of EDTA and EDTA-T brushing on the removal of root surface smear layer. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17: 319-25.
55. Sampaio JEC. Eficiência de detergentes e EDTA na remoção da "smear layer" de superfícies radiculares submetidas à raspagem e aplainamento: análise através da microscopia eletrônica de varredura. [tese de livre docência]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 1999.
56. Selvig KA, Bogle G, Claffey NM. Collagen linkage in periodontal connective tissue reattachment. An ultrastructural study in beagle dogs. *J Periodontol.* 1988; 59: 758-68.
57. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol.* 1992; 63: 322-31.
58. Souza CP. Estudo in vitro da eficácia do gel de EDTA 24% na remoção de "smear layer" e exposição de fibras colágenas da superfície radicular [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2004.
59. Sterrett JD, Bain C. Citric acid burnishing of dentinal root surfaces. A preliminary scanning electron microscopy report. *J Can Dent Assoc.* 1987; 53: 395-7.

60. Sterrett JD, Dhillon M, Murphy HJ. Citric acid demineralization of cementum and dentin: the effect of application pressure. *J Clin Periodontol.* 1995; 22: 434-41.
61. Sterrett JD, Murphy HJ. Citric acid burnishing of dentinal root surfaces. A scanning electron microscopy report. *J Clin Periodontol.* 1989; 16: 98-104.
62. Sterrett JD, Simmons J, Whitford G, Russell CM. Tetracycline demineralization of dentin: the effects of concentration and application time. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 457-63.
63. Takacs VJ, Lie T, Perala DG, Adams DF. Efficacy of 5 machining instruments in scaling of molar furcations. *J Periodontol.* 1993; 64: 228-36.
64. Tay FR, Kwong SM, Itthagarun A, King NM, Yip HK, Moulding KM, et al. Bonding of a self-etching primer to non-carious cervical sclerotic dentin: interfacial ultrastructure and microtensile bond strength evaluation. *J Adhes Dent.* 2000; 2: 9-28.
65. Terranova VP, Franzetti LC, Hic S, DiFlorio RM, Lyall RM, Wikesjo UM, et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J Periodontal Res.* 1986; 21: 330-7.
66. Terranova VP, Martin GR. Molecular factors determining gingival tissue interaction with tooth structure. *J Periodontal Res.* 1982; 17: 530-3.
67. Trombelli L, Scabbia A, Calura G. Nondiseased cementum and dentin root surface following tetracycline hydrochloride conditioning: SEM study of the effects of solution concentration and application time. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1994; 14: 460-9.

68. Trombelli L, Scabbia A, Zangari F, Griselli A, Wikesjo UM, Calura G. Effect of tetracycline HCl on periodontally-affected human root surfaces. *J Periodontol.* 1995; 66: 685-91.
69. Wang Y, Morlandt AB, Xu X, Carnes DL, Jr., Chen Z, Steffensen B. Tetracycline at subcytotoxic levels inhibits matrix metalloproteinase-2 and -9 but does not remove the smear layer. *J Periodontol.* 2005; 76: 1129-39.
70. Wikesjo UM, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ, Lyall RM, Hic S, et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodontal Res.* 1986; 21: 322-9.
71. Wikesjo UM, Nilveus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair: a review. *J Periodontol.* 1992; 63: 158-65.
72. Wirthlin MR, Pederson ED, Hancock EB, Lamberts BL, Leonard EP. The hypermineralization of diseased root surfaces. *J Periodontol.* 1979; 50: 125-7.

**ANEXOS**



## Anexos

### Anexo 1

Certificado emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (Protocolo CEP-FO/CAr nº 39/07).



## Anexo 2

## Termo de consentimento livre e esclarecido.

UNESP  UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CÂMPUS DE ARARAQUARA FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Pesquisa: Biomodificação Radicular em Dentes Expostos e Não Expostos a Placa Bacteriana.  
Pesquisador responsável: José Eduardo Cezar Sampaio

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Por esse instrumento particular, declaro, para os devidos fins éticos e legais, que eu (nome) \_\_\_\_\_, (nacionalidade) \_\_\_\_\_, (profissão) \_\_\_\_\_, portador do R.G. \_\_\_\_\_, C.I.C. \_\_\_\_\_, residente à Rua/ Av. \_\_\_\_\_, na cidade de \_\_\_\_\_, Estado de \_\_\_\_\_, concordo em participar da pesquisa intitulada: "Biomodificação Radicular em Dentes Expostos e Não Expostos a Placa Bacteriana." Fui informado que o objetivo desta pesquisa é analisar, por meio dos dentes extraídos, a ação de algumas substâncias químicas (EDTA, tetraciclina e ácido cítrico), sobre a raiz desses dentes. Fui esclarecido que, para tanto, serão selecionados homens ou mulheres, que necessitem extrair seus dentes por motivo de Doença Periodontal avançada, por estes dentes estarem inclusos nos meus maxilares ou por indicações ortodônticas, para a realização da pesquisa.

Após ter lido e assinado o anexo que segue junto, eu autorizo na doação de meu(s) dente(s), que serão extraídos na Clínica de Cirurgia ou de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, por indicação terapêutica, para a realização deste trabalho citado acima, bem como o uso para a divulgação e publicação em revistas científicas, brasileiras ou estrangeiras, dos dados obtidos na pesquisa. Recebi a garantia de sigilo de minha identidade, assegurando a minha privacidade.

Fui esclarecido que tenho plena liberdade para desistir da referida pesquisa, retirando o meu consentimento a qualquer momento, sem sofrer nenhum tipo de penalização, e que tenho plena liberdade de contactar o pesquisador responsável, Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio, pelo telefone (016) 3301-6374, para obter quaisquer esclarecimentos a respeito da pesquisa ou o Comitê de Ética em Pesquisa, para qualquer informação adicional em relação à pesquisa da qual participo, pelo telefone (016) 3301-6432 ou (016) 3301 6434.

Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos e, por estar de pleno acordo com o que está escrito acima, lido e assino esse Termo de Consentimento.

Araraquara, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_

Assinatura do Paciente

Assinatura do Pesquisador Responsável

Protocolo CEP nº 29/07  
Aprovado em Reunião de  
17/10/07  
Assinatura do CEP-FC/OA

## Anexo 3

Quadros das notas atribuídas às fotomicrografias segundo o Índice de Biomodificação Radicular.

## TETRACICLINA

<b>GRUPO CONTROLE DENTES NÃO EXPOSTOS A PLACA-GRUPO I-A</b>				
Foto (1500x)	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Nota Foto
300162	3	3	3	3
300164	3	3	3	3
300166	3	3	3	3
300168	3	3	3	3
300170	3	3	3	3
300172	3	3	3	3
300174	3	3	3	3
300176	3	3	3	3
300180	3	3	3	3
300182	3	3	3	3

<b>GRUPO CONTROLE EXPOSTOS A PLACA-GRUPO I-B</b>				
Foto (1500x)	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Nota Foto
300184	3	3	3	3
300186	3	3	3	3
300188	3	3	3	3
300190	3	3	3	3
300192	3	3	3	3
300194	3	3	3	3
300196	3	3	3	3
300204	3	3	3	3
300206	3	3	3	3
300208	3	3	3	3

<b>TETRACICLINA DENTES NÃO EXPOSTOS A PLACA- GRUPO I-C</b>				
<b>Foto (1500x)</b>	<b>1ª leitura</b>	<b>2ª leitura</b>	<b>3ª leitura</b>	<b>Nota Foto</b>
300210	2	3	2	2
300212	3	3	3	3
300214	3	2	2	2
300216	3	3	3	3
300218	2	3	2	2
300220	2	3	2	2
300222	2	2	2	2
300224	2	2	2	2
300226	3	2	2	2
300228	2	3	2	2

<b>TETRACICLINA DENTES EXPOSTOS A PLACA- GRUPO I-D</b>				
<b>Foto (1500x)</b>	<b>1ª leitura</b>	<b>2ª leitura</b>	<b>3ª leitura</b>	<b>Nota Foto</b>
300230	2	2	2	2
300232	3	3	3	3
300234	3	3	3	3
300198	3	3	3	3
300200	3	3	3	3
300202	3	3	3	3
310204	3	3	3	3
310206	2	2	2	2
310208	4	2	2	2
310210	3	2	2	2

## ÁCIDO CÍTRICO 25%

### CONTROLE DENTES NÃO EXPOSTOS A PLACA- GRUPO II-A

Foto (1500x)	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Nota Foto
170720	3	3	3	3
170722	3	3	3	2
170724	3	3	3	3
170702	3	3	3	3
170704	3	3	3	3
170706	3	3	3	3
210774	3	3	3	3
210776	3	3	3	3
210778	3	3	3	3
210780	3	3	3	3

### CONTROLE DENTES EXPOSTOS A PLACA- GRUPO II-B

Foto (1500x)	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Nota Foto
210766	3	3	3	3
210768	3	3	3	3
170714	3	3	3	3
170716	3	3	3	3
170718	3	3	3	3
210770	3	3	3	3
210772	3	3	3	3
170730	3	3	3	3
170732	3	3	3	3
170734	3	3	3	3

<b>ÁCIDO CÍTRICO DENTES NÃO EXPOSTOS A PLACA-GRUPO II-C</b>				
<b>Foto (1500x)</b>	<b>1ª leitura</b>	<b>2ª leitura</b>	<b>3ª leitura</b>	<b>Nota Foto</b>
170708	4	4	4	4
170710	4	4	4	4
170712	4	4	4	4
210762	4	4	4	4
210764	4	4	4	4
170746	4	4	4	4
170748	4	4	4	4
170750	4	4	4	4
170752	4	4	4	4
170754	4	4	4	4

<b>ÁCIDO CÍTRICO DENTES EXPOSTOS A PLACA-GRUPO II-D</b>				
<b>Foto (1500x)</b>	<b>1ª leitura</b>	<b>2ª leitura</b>	<b>3ª leitura</b>	<b>Nota Foto</b>
170756	4	4	4	4
170758	3	3	4	3
170760	4	4	4	4
170736	4	4	4	4
170738	4	4	4	4
170740	1	1	1	1
170742	4	4	4	4
170744	4	4	4	4
170726	4	4	4	4
170728	3	3	3	3

## ÁCIDO CÍTRICO 1%

### CONTROLE DENTES NÃO EXPOSTOS A PLACA- GRUPO III-A

Foto (1500x)	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Nota Foto
210782	3	3	3	3
210784	3	3	3	3
210786	3	3	3	3
210796	3	3	3	3
210798	3	3	3	3
220150	3	3	3	3
220152	3	3	3	3
220154	3	3	3	3
210106	3	3	3	3
210108	3	3	3	3

### CONTROLE DENTES EXPOSTOS A PLACA- GRUPO III-B

Foto (1500x)	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Nota Foto
220138	3	3	3	3
220140	3	3	3	3
220142	3	3	3	3
210792	3	3	3	3
210794	3	3	3	3
220156	3	3	3	3
220158	3	3	3	3
220160	3	3	3	3
210116	3	3	3	3
210118	3	3	3	3

<b>ÁCIDO CITRICO DENTES NÃO EXPOSTOS A PLACA-GRUPO III-C</b>				
<b>Foto (1500x)</b>	<b>1ª leitura</b>	<b>2ª leitura</b>	<b>3ª leitura</b>	<b>Nota Foto</b>
210110	2	2	4	2
210112	2	2	2	2
210114	2	3	2	2
210788	3	2	2	2
210790	2	2	2	2
210100	2	2	2	2
210102	2	3	3	3
210104	2	2	2	2
210124	2	2	2	2
210126	3	3	3	3

<b>ÁCIDO CITRICO DENTES EXPOSTOS A PLACA- GRUPO III-D</b>				
<b>Foto (1500x)</b>	<b>1ª leitura</b>	<b>2ª leitura</b>	<b>3ª leitura</b>	<b>Nota Foto</b>
220132	2	2	3	2
220134	3	3	3	3
220136	3	3	3	3
210120	3	2	3	3
210122	3	3	3	3
220144	2	2	2	2
220146	2	2	2	2
220148	3	3	3	3
210128	3	3	3	3
210130	3	3	3	3

## EDTA 24%

<b>EDTA DENTES NÃO EXPOSTOS A PLACA-GRUPO IV-C</b>				
Foto (1500x)	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Nota Foto
310212	4	4	4	4
310214	4	2	4	4
310216	3	3	3	3
310218	4	4	4	4
310220	4	4	4	4
310222	4	4	4	4
310224	4	4	4	4
310226	4	4	4	4
310228	4	4	4	4
310230	4	4	3	4

<b>EDTA DENTES EXPOSTOS A PLACA-GRUPO IV-D</b>				
Foto (1500x)	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Nota Foto
310232	1	1	1	1
310234	1	1	1	1
310236	4	2	4	4
310238	4	4	4	4
310240	4	4	4	4
310242	4	4	4	4
310244	3	4	4	4
310246	4	4	4	4
310247	4	4	4	4
310248	4	4	4	4

## Anexo 4

Tabela 2- Distribuição da freqüência dos escores referentes aos diferentes graus de remoção de *smear layer* conforme o agente condicionante utilizado para as diferentes amostras.

	TETRACICLINA	EDTA 24%	ÁC CÍTRICO 1%	ÁC CÍTRICO 25%
1	NEP	EP	NEP	EP
2	NEP	EP	NEP	CNEP
3	NEP	CNEP	NEP	CNEP
4	NEP	CNEP	NEP	CNEP
5	NEP	CNEP	NEP	CNEP
6	NEP	CNEP	NEP	CNEP
7	NEP	CNEP	NEP	CNEP
8	NEP	CNEP	NEP	CNEP
9	EP	CNEP	EP	CNEP
10	EP	CNEP	EP	CNEP
11	EP	CNEP	EP	CNEP
12	EP	CNEP	CNEP	CEP
13	CNEP	CEP	CNEP	CEP
14	CNEP	CEP	CNEP	CEP
15	CNEP	CEP	CNEP	CEP
16	CNEP	CEP	CNEP	CEP
17	CNEP	CEP	CNEP	CEP
18	CNEP	CEP	CNEP	CEP
19	CNEP	CEP	CNEP	CEP
20	CNEP	CEP	CNEP	CEP
21	CNEP	CEP	CNEP	CEP
22	CNEP	CEP	CEP	EP
A				
23	CEP	NEP	CEP	EP
24	CEP	NEP	CEP	NEP
25	CEP	NEP	CEP	NEP
26	CEP	NEP	CEP	NEP
27	CEP	NEP	CEP	NEP
28	CEP	NEP	CEP	NEP
29	CEP	NEP	CEP	NEP
30	CEP	NEP	CEP	NEP
31	CEP	NEP	CEP	NEP
32	CEP	NEP	NEP	NEP
33	NEP	EP	NEP	NEP
34	NEP	EP	EP	EP
35	EP	EP	EP	EP
36	EP	EP	EP	EP
37	EP	EP	EP	EP
38	EP	EP	EP	EP
39	EP	EP	EP	EP
40	EP	EP	EP	EP

ESCORE 1
ESCORE 2
ESCORE 3
ESCORE 4

Legenda: **escore** (1-4);

**CEP**- Controle exposto a placa; **CNEP**- Controle não exposto a placa;

**EP**- Exposto a placa; **NEP**- Não exposto a placa

Autorizo a reprodução deste trabalho.  
(Direitos de publicação reservados ao autor)

Araraquara, 18 de Março de 2010

LUCAS AMARAL FONTANARI