



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



Ana Carolina da Mata

**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.**

**ARARAQUARA
2002**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA



Ana Carolina da Mata

**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 apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, do Campus de Araraquara, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Odontologia (*Periodontia*).

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

ARARAQUARA
2002

Dados curriculares

Nome: Ana Carolina da Mata

Filiação: Paulo Raimundo da Mata

Maria da Graça Badaraco da Mata

1992 – 1996: Curso de Graduação

Faculdade de Odontologia de Araraquara- UNESP

1998-1999: Curso de Especialização em Periodontia,

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2000-2002 – Curso de Pós-Graduação em Periodontia, nível de Mestrado

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

Dedicatória

"Se um dia já homem feito e realizado, sentires que a terra cede a teus pés, que tuas obras desmoronam, que não há ninguém a tua volta para te estender a mão, esquece a tua maturidade, passa pela tua mocidade, volta a tua infância e balbúcia, entre lágrimas e esperança, as últimas palavras que sempre te restarão na alma: Minha Mãe e Meu Pai."

Rui Barbosa

Dedico este trabalho aos meus pais **Paulo e Graça**, pelo incentivo em todas as etapas de minha vida, compartilhando todos os momentos com muito amor, carinho e dedicação.

Sou eternamente grata

Ao meu noivo **Rafael**, meu amor e eterno companheiro, pela sua compreensão, cumplicidade, amizade e fonte de incentivo e otimismo.

Aos meus irmãos **Paula** e **Marcus**, pelo apoio e amizade.

À minha segunda família: meus sogros **Sérgio** e **Celeste**, meus cunhados **Francisco**, **Pedro**, **Ana Maria**, **Guilherme** e ao pequenino **Felipe**.

Agradeço a Deus pela oportunidade de realizar este trabalho

Agradecimentos especiais

Ao Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio, meu profundo agradecimento. Meu mestre por anos de convivência, eterno orientador, nos meus primeiros passos na Periodontia, desde meu estágio na Graduação, passando pela Especialização e hoje na Pós graduação. Devo muito meus conhecimentos a você. Agradeço também pela realização deste trabalho e atenção dispensada em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Benedicto Egbert Corrêa de Toledo, pela oportunidade de poder compartilhar sua sabedoria, humildade e amizade.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP), na pessoa de seu Diretor **Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached** e de seu Vice-Diretor **Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard**, pela oportunidade de participar deste curso

Aos professores da Disciplina de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara: **Egbert, Ricardo, Élcio, José Eduardo, Adriana, Silvana, Joni e Carlinhos**, pelos conhecimentos transmitidos, paciência e dedicação.

À minha amiga **Cliciane**, pela sua sincera amizade e por me mostrar uma maneira simples e feliz de se viver.

Aos colegas da Pós graduação: **Cliciane, Karina, Cristiane, Marinela, Esmeralda, Rogério, Celso, José Marcos, Rodrigo e Luiz Henrique**, pelos momentos que compartilhamos conhecimentos e amizade.

Às amigas da República: **Cliciane, Adriana, Ana Paula, Helen, Daniela, Andréia e Elisângela**, pelo carinho e momentos felizes.

A todos os funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, em especial à **Zezé, Regina Lúcia, D. Cidinha., D. Maria do Rosário, D. Terezinha, Cláudia e D. Maria** pelo agradável convívio diário, com muita atenção e dedicação.

Aos **funcionários da biblioteca** desta Faculdade pela atenção, disposição e ajuda em todos momentos

Aos **funcionários da Pós-Graduação** da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP, obrigada pelo apoio.

Ao **Sebastião Anésio Dametto** (técnico de microscopia eletrônica), pela grande colaboração na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Ary José Dias Mendes**, pela análise estatística e atenção a mim dispensada.

Aos profissionais: **Elisa Bilaqui e Eduardo "Tric-Tric"**, que direta ou indiretamente colaboraram para realização deste trabalho.

À **Flávia Pavan de Campos** pela importante colaboração na fase experimental deste trabalho

À **Capes** pelo apoio financeiro

A todos os meus familiares e amigos que rezaram e torceram por mim.

MUITO OBRIGADO !!!!

Sumário

Introdução.....	9
Revisão de literatura.....	13
Proposição.....	30
Material e método	31
Resultado.....	41
Discussão.....	57
Conclusão.....	69
Referências bibliográficas.....	70
Anexos.....	82
Resumo.....	88
Abstract.....	90

Introdução

Entre os objetivos da terapia periodontal, está a regeneração dos tecidos periodontais de suporte dos dentes afetados pela doença periodontal (Madison & Hokett, 1997).

As superfícies radiculares contaminadas pela placa bacteriana abrigam bactérias e seus produtos tóxicos (Adriens et al., 1988) e os processos inflamatórios, enzimáticos, e outras alterações biológicas decorrentes da doença periodontal afetam a integridade da superfície radicular (Ruben & Shapiro, 1978), podendo apresentar perda de inserção de fibras colágenas (Selvig, 1969) e, conseqüentemente, promover a supressão da migração e da proliferação de fibroblastos no cimento (Aleo et al., 1974; Aleo et al., 1975). Algumas superfícies podem ainda adsorver cálcio, fosfato e flúor, tornando-se hipermineralizadas e acumular material orgânico exógeno (Garret et al., 1978).

A adequada remoção de placa e de substâncias tóxicas da superfície radicular contaminada parece ser essencial à regeneração periodontal (Wirthlin, 1981). Entre os objetivos da raspagem e aplainamento radicular, está a remoção de depósitos bacterianos e de endotoxinas da superfície radicular. Verifica-se, porém, que a instrumentação periodontal resulta na formação de “smear layer” (Eick et al., 1970; Jones et al., 1972; Pashley, 1984).

A “smear layer” é composta basicamente de tecido calcificado e de material inorgânico, podendo conter também partículas orgânicas (processos odontoblásticos, bactérias, toxinas bacterianas e células sangüíneas) (Sampaio,

1999). Apresenta-se como uma superfície amorfa, granular e irregular, quando analisada através de microscopia eletrônica de varredura (Madison & Hokett, 1997).

A “smear layer” serve, muitas vezes, como barreira entre os tecidos periodontais e a superfície radicular, podendo inibir a formação de uma nova inserção (Nalbandian & Cote 1982; Polson et al., 1984; Hanes et al., 1988). Pode, além disso, atrapalhar a terapêutica da hipersensibilidade dentinária cervical, dificultando a penetrabilidade das substâncias medicamentosas nos túbulos dentinários (Kerns et al., 1991; Fogel & Pashley, 1993).

O condicionamento da superfície radicular, pela aplicação tópica de substâncias químicas visando à remoção da “smear layer” decorrente da instrumentação periodontal, vem sendo estudado (Wikesjö et al., 1986; Sterrett & Bain, 1987; Sterrett & Murphy, 1989; Sterrett et al., 1989; Codelli et al., 1991; Labahn et al., 1992; Wen et al., 1992; Lafferty et al., 1993; Trombelli et al., 1994; Trombelli et al., 1995; Sterrett et al., 1995; Madison & Hokett, 1997; Isik et al., 1997; Sampaio, 1999; Delazari et al., 1999; Pilatti, 2001). A desmineralização da superfície radicular expõe a matriz de colágeno (Selvig et al., 1981; Héritier, 1984), provendo substrato para quimiotaxia, migração e inserção de células envolvidas na reparação (Gauss-Muller et al., 1980) e na formação de nova inserção de tecido conjuntivo (Hanes et al., 1985; Polson & Hanes, 1987). Além disso, a desmineralização remove a “smear layer”, promovendo a abertura e o aumento do diâmetro dos túbulos dentinários (Sterrett & Bain, 1987; Hanes et al., 1991) e possivelmente libera fatores de crescimento existentes na matriz

orgânica do cimento ou da dentina, estimulando a divisão e proliferação das células do ligamento periodontal (Lopez, 1984; Fardal & Lowenberg, 1990; Sterrett et al., 1993; Blomlöf et al., 1995; Zaman et al., 2000).

Entre as substâncias utilizadas na desmineralização radicular, temos: o ácido fosfórico (Leidal & Ericksen, 1979; Héritier, 1984), o ácido cítrico (Register, 1973; Magnusson et al., 1985), o EDTA (Blomlöf & Lindskog 1995a e 1995b) e a tetraciclina (Trombelli et al., 1995; Frantz & Polson, 1988).

As tetraciclinas compreendem um grupo de agentes antimicrobianos de amplo espectro, tendo sido introduzidas na prática clínica por volta de 1940 (Duggar, 1948). Estudos realizados *in vitro* apresentaram aumento da união da glicoproteína fibronectina à dentina, podendo estimular a adesão e a proliferação de fibroblastos (Terranova & Martin, 1982; Terranova et al., 1986), em superfícies radiculares tratadas com tetraciclina. Entre outras propriedades da tetraciclina, temos a atividade anti-colagenase (Golub et al., 1984) e a inibição tanto da função dos osteoclastos (Gomes et al., 1984), como da função dos neutrófilos (Gabler & Creamer, 1991).

A tetraciclina é também conhecida como um potente quelante, e a sua incorporação ao esmalte e à dentina pode ser através de um processo físico-químico ainda desconhecido (Bjorvatn , 1983). A tetraciclina é adsorvida e subsequente liberada da superfície dentária, mantendo sua atividade antimicrobiana no período de, no mínimo, 48 horas (Wikesjö et al., 1986).

As formas com que as diferentes substâncias são aplicadas na superfície radicular variam nas concentrações (Trombelli et al., 1994; Blomlöf et

al., 1997a; Madison & Hockett, 1997), no intervalo das aplicações (Polson et al., 1984; Blomlöf et al., 1997b; Sterrett et al., 1993) e no modo de aplicação (Labahn et al., 1992, Isik, et al., 1997).

Frente aos diferentes resultados obtidos quanto à remoção da “smear layer” após a aplicação de tetraciclina, quando as variáveis citadas acima são consideradas (Wikesjö et al., 1986; Trombelli et al., 1994; Trombelli et al., 1995; Isik et al., 1997; Isik et al., 2000), novos estudos se fazem necessários.

Revisão da literatura

Abordaremos uma variedade de estudos que utilizaram microscopia eletrônica de varredura, para avaliar a topografia de superfícies radiculares, após a aplicação de diferentes substâncias, em diferentes intervalos e diferentes modos de aplicação.

Blocos de dentina, obtidos de dentes de bovinos, foram tratados com tetraciclina, sendo avaliadas a morfologia obtida, a capacidade de adsorção, a liberação e a inibição do crescimento bacteriano promovido por esta substância, em estudo realizado por Wikesjö et al., em 1986. Os blocos foram imersos, por 5 minutos, em solução aquosa de tetraciclina, em diferentes concentrações (10, 25, 50, 75, 100, 150 e 200 mg/ml), para avaliar a adsorção. Para análise da morfologia das superfícies, após o condicionamento das amostras com as diferentes concentrações de tetraciclina, foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura. Para a avaliação da inibição bacteriana, outros blocos foram imersos em soluções de tetraciclina HCL por 5 minutos em diferentes concentrações: 1.2, 3.7, 11 ou 33µg/ml, e, posteriormente, foi realizada inoculação bacteriana. Máxima adsorção foi observada quando as amostras foram imersas em concentrações de tetraciclina iguais ou superiores a 50 mg/ml, e a liberação da tetraciclina esteve presente até 48 horas depois. Máxima inibição do crescimento bacteriano foi avaliada nas amostras tratadas com 11 e 33µg/ml tetraciclina HCL. Quanto aos aspectos morfológicos das superfícies dentinárias, quando imersas em 10 ou 100 mg/ml de

solução de tetraciclina, apresentaram remoção da “smear layer” e exposição dos túbulos dentinários.

Brunimento de ácido cítrico em superfícies dentinárias radiculares, *in vitro*, foi objeto de estudo de Sterrett & Bain, em 1987. Após raspagem de superfícies radiculares de dentes periodontalmente afetados de humanos, as amostras foram mantidas em formalina 10%. No momento do experimento, as amostras foram enxaguadas com água destilada e submetidas à aplicação de ácido cítrico com bolinhas de algodão, por contato ou por brunimento, por 5 minutos (sendo que as bolinhas foram trocadas a cada 20 segundos). Através de análise em microscopia eletrônica de varredura, ambos os modos de aplicação do ácido cítrico expuseram fibras colágenas e promoveram a abertura dos túbulos dentinários, sendo que o ato de brunimento removeu mais material inorgânico, possivelmente devido à combinação da ação química do ácido com a ação mecânica do brunimento.

Superfícies dentinárias radiculares de dentes periodontalmente afetados de humanos, submetidos à raspagem radicular *in vitro*, e fixados em formalina 10% após a extração, foram posteriormente tratadas com ácido cítrico por 5 minutos. As aplicações do ácido foram feitas com auxílio de bolinhas de algodão (trocadas a cada 30 segundos), sendo por contato ou por brunimento. Este estudo de Sterrett & Murphy de 1989 avaliou, através de microscopia eletrônica de varredura, a morfologia das superfícies condicionadas. No grupo em que a aplicação do ácido cítrico foi apenas por contato, algumas áreas apresentaram discreta presença de “smear layer” e esparsas estruturas fibrilares. No grupo

tratado por brunimento, houve efetiva remoção da “smear layer” e constatou-se a presença de uma distinta superfície com tufo de fibrilas colágenas. Os autores sugerem que a técnica de aplicação do ácido por brunimento foi capaz de expor mais fibras colágenas e de remover mais material inorgânico da superfície dentinária, possivelmente devido a uma combinação de um processo químico com o mecânico.

Sterrett et al., em 1989, avaliaram, *in vitro*, através de microscopia eletrônica de varredura, os efeitos do brunimento de ácido cítrico em superfícies dentinárias radiculares de dentes periodontalmente saudáveis de humanos. As superfícies foram submetidas à raspagem radicular, seguida da aplicação de ácido cítrico por 5 minutos, com bolinhas de algodão saturadas com o ácido, por contato (grupo controle) ou por brunimento (grupo experimental). As bolinhas de algodão foram trocadas de 2 a 3 vezes por minuto. Ambos os grupos apresentaram uma superfície isenta de “smear layer”. O grupo controle apresentou uma área intertubular com uma trama de material fibrilar. A superfície do grupo experimental apresentou fissuras, e fibrilas colágenas ocasionalmente foram encontradas.

Bal et al., em 1990, avaliaram os efeitos de diferentes tratamentos radiculares na organização do coágulo inicial. Seis dentes periodontalmente afetados de humanos foram extraídos e divididos em dois grupos. No primeiro grupo, as superfícies radiculares foram divididas em três áreas de tratamento: a) ligamento periodontal intacto, b) raspagem, c) raspagem e aplicação de ácido cítrico 1%. O mesmo ocorreu com o segundo grupo, mas a

solução aplicada foi tetraciclina HCL 50 mg/ml. As raízes foram reimplantadas e novamente extraídas após diferentes períodos (menos de 5 segundos, 1 e 3 minutos) e preparadas para avaliação em microscopia eletrônica de varredura. Os achados demonstraram que a organização do coágulo ocorreu mais rapidamente nas áreas tratadas com raspagem radicular associada ao condicionamento com tetraciclina. Os autores sugerem uma possível explicação para estes resultados: a propriedade de desmineralização e a ação antibacteriana da tetraciclina HCL.

Hanes et al., em 1991, utilizando fragmentos de dentina fraturada (FDF), compararam, através de microscopia eletrônica de varredura, a superfície dentinária radicular de incisivos de bovinos divididos em quatro grupos: 1) FDF não-instrumentada; 2) FDF submetida a raspagem radicular (RAR); 3) FDF + RAR e imersão em ácido cítrico (pH =1) por 5 minutos; e, 4) FDF + RAR e imersão em solução de tetraciclina HCL 0,5% (pH =3,2) por 5 minutos. O tratamento com ácido cítrico removeu a “smear layer”, expondo a abertura dos túbulos dentinários, além de aumentar o diâmetro destes, sugerindo uma desmineralização da dentina peritubular. O tratamento com tetraciclina não removeu satisfatoriamente a “smear layer” como o ácido cítrico. Os autores sugerem a utilização de maior concentração de tetraciclina HCL, para uma mais efetiva remoção da “smear layer” criada sobre a superfície radicular, após instrumentação.

O efeito do tempo e o método de aplicação de ácido cítrico (pH 1) em superfícies radiculares periodontalmente afetadas foram avaliados, através de microscopia eletrônica de varredura, por Codelli et al., em 1991. A princípio

foi realizada raspagem radicular nestas superfícies radiculares, de dentes extraídos de humanos. Logo após, aplicou-se, por 3 e por 5 minutos, ácido cítrico passivamente ou por brunimento vigoroso, com bolinhas de algodão saturadas com o ácido. No grupo submetido ao brunimento com ácido cítrico por 3 minutos, os resultados apresentaram ótima exposição de colágeno e desmineralização. Resultados similares foram obtidos, quando da aplicação passiva por 5 minutos. Já o brunimento por 5 minutos apresentou desmineralização excessiva ou exposição de colágeno recoberta por uma camada amorfa, sugerindo uma desnaturação protéica.

Em um estudo *in vitro* realizado por Wen et al., em 1992, foram avaliados, através de microscopia eletrônica de varredura, os efeitos de diferentes técnicas de aplicação de ácido cítrico em superfícies dentinárias. Foram obtidas quarenta amostras de dentina da superfície radicular (através da remoção do cimento radicular com fresas diamantadas), de dez dentes periodontalmente afetados de humanos. As amostras foram divididas em 4 grupos de tratamento com ácido cítrico (pH 1), segundo os seguintes modos de aplicação: por imersão, por contato com bolinhas de algodão saturadas com ácido, por brunimento com bolinhas de algodão saturadas ou por aplicação com pincel. O tempo de aplicação do ácido foi de 5 minutos, sendo que as bolinhas eram trocadas de 2 a 3 vezes por minuto. No grupo controle, foi realizada apenas raspagem radicular. Os resultados demonstraram que o pincelamento do ácido e o contato com bolinhas de algodão saturadas com o ácido expuseram fibrilas intertubulares e um grande número de túbulos dentinários, quando comparados ao grupo de imersão. Já no grupo em que

foi utilizado o brunimento, foi constatada a presença de “smear layer”, com total ou parcial obliteração dos túbulos dentinários e com ausência de fibrilas colágenas. Os autores sugerem que, se a exposição de fibrilas intertubulares e a abertura dos túbulos dentinários são benéficas ao procedimento de regeneração periodontal, não é interessante aplicar o ácido cítrico com pressão excessiva.

Utilizando blocos de dentina radicular de terceiros molares humanos impactados e extraídos, Labahn et al. (1992) avaliaram, através de microscopia eletrônica de varredura, o efeito da aplicação, por gotejamento ou por brunimento, de ácido cítrico ou de tetraciclina HCL, em diferentes períodos (30, 60, 120 ou 240 segundos). As superfícies dentinárias foram previamente raspadas e bolinhas de algodão foram utilizadas para a aplicação das substâncias, sendo trocadas a cada 30 segundos. Ambas as substâncias demonstraram remoção da “smear layer”, sendo que o aumento do diâmetro dos túbulos foi significativamente maior quando do uso do ácido cítrico. Quanto aos modos de aplicação, não houve maiores diferenças na profundidade de penetração, nem no diâmetro dos túbulos, em ambos ácidos estudados. Mas o grau de desmineralização mostrou-se diretamente proporcional ao tempo de aplicação. Constatou-se também que o ácido cítrico apresentou melhor desmineralização das superfícies dentinárias, quando comparadas àquelas condicionadas com tetraciclina.

Amostras de dentina radicular obtidas de dentes periodontalmente afetados de humanos foram submetidas a raspagem radicular *in vitro*. Posteriormente, foi aplicada com auxílio de bolinhas de algodão, com leve

pressão (com intenção de umedecer, sem brunir o agente sobre a superfície radicular), solução de tetraciclina HCL ou ácido cítrico (pH 1). Os autores deste trabalho (Lafferty et al., 1993), através de microscopia eletrônica de varredura, verificaram que ambas as soluções removeram de maneira efetiva e similar a “smear layer” e permitiram a exposição de fibras de colágeno sobre a superfície radicular.

As características morfológicas de superfícies cementárias e dentinárias radiculares de dentes, livres de doença periodontal e instrumentados, de humanos, tratadas com soluções de tetraciclina HCL em diferentes concentrações (62,5 mg/ml – pH 2,0 e 125mg/ml – pH 2,1) e por diferentes períodos (1 minuto e 4 minutos), foram avaliadas através de microscopia eletrônica de varredura por Trombelli et al., em 1994. As soluções foram aplicadas com bolinhas de algodão, por brunimento, sendo trocadas a cada 30 segundos. Nas amostras de cimento, observaram-se superfícies relativamente livres de resíduos com parcial abertura dos túbulos dentinários e algumas fibras colágenas. Estas modificações observadas nas amostras de cimento não foram tempo dependentes. Nas superfícies dentinárias, as modificações observadas foram diretamente proporcionais ao tempo de aplicação, sendo que, aos 4 minutos de aplicação, houve completa abertura dos túbulos dentinários e exposição da rede fibrilar de matriz de colágeno. As duas concentrações de tetraciclina apresentaram resultados parecidos, possivelmente devido ao pH quase similar das substâncias.

Microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para avaliar as características da superfície do cimento e da dentina radicular de dentes

periodontalmente saudáveis de humanos, após a aplicação de tetraciclina. As aplicações foram realizadas por brunimento, com bolinhas de algodão saturadas com tetraciclina em diferentes concentrações (10mg/ml – pH 3 e 100 mg/ml – pH 2) e em dois diferentes intervalos (1minuto e 4 minutos). As bolinhas de algodão foram trocadas a cada 30 segundos. Os resultados deste estudo de Trombelli et al. (1995) mostraram que as amostras de cimento, em que foi aplicada tetraciclina por 1 minuto, exibiram uma superfície não homogênea, relativamente livre de resíduos e com dispersas estruturas semelhantes a fibrilas colágenas intrínsecas. Quando da aplicação por 4 minutos, as superfícies cementárias apresentaram uma textura densamente fibrilar. As amostras de dentina, quando da aplicação por 1 minuto, apresentaram túbulos dentinários parcialmente cobertos por resíduos e áreas com fibrilas intertubulares, sendo que, aos 4 minutos, os túbulos estavam abertos e com presença de fibrilas colágenas peri e intertubulares. As diferentes concentrações de tetraciclina utilizadas apresentaram resultados similares. Os resultados sugerem que concentração maior do que 10mg/ml não altera a morfologia da superfície, ao passo que intervalos pequenos podem limitar os efeitos do tratamento.

Blomlöf & Lindskog, em 1995b, avaliaram a textura da superfície radicular e a colonização celular e tissular, após aplicações de diferentes substâncias. As superfícies dentinárias radiculares de dentes extraídos de macacos foram tratadas com diferentes substâncias (ácido cítrico pH 1,0 ou ácido fosfórico pH 1,0 ou EDTA pH 7,0), por diferentes modos de aplicação (embebidos ou fricção com bolinhas de algodão, sendo estas trocadas a cada 60

segundos) e em diferentes intervalos de tempos (20 segundos ou 3 minutos). Para avaliar a colonização celular e tissular, outros dentes foram extraídos e as raízes foram tratadas com ácido fosfórico em gel (pH 1,0) ou com solução de EDTA 24% (pH 7,0) por 3 minutos, enxaguados, reimplantados, mantidos por 14 dias e extraídos novamente. As amostras foram preparadas para avaliação em microscopia eletrônica de varredura.

Os resultados demonstraram que aplicações de 20 segundos independentemente da substância ou do modo de aplicação, apresentaram remoção da “smear layer” intertubular. Entretanto, a remoção na abertura dos túbulos foi verificada aos 3 minutos. O EDTA promoveu exposição de matriz de colágeno, principalmente após 3 minutos de aplicação, ao contrário das outras duas substâncias ácidas, que provavelmente removeram a matriz de colágeno. As superfícies tratadas com EDTA aparentaram ser mais propícias à colonização celular, uma vez que apresentaram adesão celular e tecidual. Os resultados sugerem que superfícies dentinárias tratadas com substâncias com pH neutro retêm e expõem mais fibras colágenas do que aquelas tratadas com substâncias com baixo pH.

Superfícies radiculares cementárias ou dentinárias instrumentadas, de dentes periodontalmente saudáveis de humanos, tratadas com ácido cítrico 30%, por diferentes modos de aplicação (contato, fricção leve ou brunimento vigoroso), foram avaliadas, através de microscopia eletrônica de varredura, por Sterrett et al., em 1995. As bolinhas de algodão foram trocadas a cada 30 segundos. Todos os grupos apresentaram remoção da “smear layer”, e as

superfícies dentinárias exibiram túbulos dentinários evidentes, independentemente do modo de aplicação utilizado. Nas superfícies dentinárias e cementárias verificou-se que tanto a porcentagem das áreas com tufo de fibras colágenas, como a profundidade e a densidade dos tufo foram similares em ambos os grupos que sofreram aplicação ativa (fricção ou brunimento), os quais apresentaram melhores resultados na exposição de fibras colágenas do que o grupo em que o ácido foi aplicado passivamente.

Superfícies radiculares expostas a substâncias com pH baixo ou neutro foram comparadas em um estudo de Blomlöf em 1996. Superfícies cementárias de dentes saudáveis de macacos e superfícies cementárias e dentinárias de dentes periodontalmente afetados de humanos foram condicionadas com ácido fosfórico 37% (pH 1), ou com ácido cítrico (pH 1) ou com EDTA 24% (pH 7), sendo friccionadas com bolinhas de algodão saturadas com as diferentes substâncias, por 3 minutos. As bolinhas foram trocadas a cada 60 segundos. Os resultados demonstraram que o EDTA removeu os componentes minerais das superfícies estudadas e preservou a integridade das fibras colágenas expostas. O ácido fosfórico parece ter provocado erosões nas superfícies, e o ácido cítrico apresentou resultados intermediários aos das duas substâncias, expondo fibras colágenas, mas não preservando o arranjo tridimensional destas.

Blomlöf et al., ainda em 1996, avaliaram a superfície dentinária radicular de dentes periodontalmente afetados de humanos, após condicionamento com EDTA 24%. Quatro grupos foram formados: 1) raspagem e alisamento radicular (RAR) + extração; 2) RAR + extração + imersão em tripsina 1% por 20

minutos; 3) RAR + aplicação de gel EDTA 24%, com uma seringa, mantido por 2 minutos + enxágüe + extração; 4) idem ao grupo 3, sendo que após a extração, as amostras foram imersas em tripsina 1%, por 20 minutos. O tratamento com tripsina foi utilizado para remover remanescentes de sangue das superfícies. O grupo 4 foi o único que apresentou remoção da “smear layer”, com exposição de túbulos dentinários e de fibras colágenas.

Com o objetivo de avaliar a remoção da “smear layer” e a exposição de colágeno, superfícies dentinárias radiculares de dentes periodontalmente afetados de humanos, foram submetidas à aplicação de EDTA em diferentes concentrações (1.5; 5%; 15; e 24%), por 2 minutos, e avaliadas em microscopia eletrônica de varredura. Os resultados deste trabalho de Blomlöf et al. (1997a), realizado *in vitro*, demonstraram que o EDTA 15% removeu a “smear layer” melhor do que as concentrações inferiores, sendo também encontradas fibras colágenas esparsas. O EDTA 24% foi o que apresentou os melhores resultados quanto à remoção da “smear layer”, como na exposição de fibras colágenas.

A formação de “smear layer”, ocasionada por diferentes modalidades de instrumentação, e sua remoção com EDTA foram objeto de estudo de Blomlöf et al., em 1997b. Vinte e quatro dentes extraídos de humanos devido a periodontite severa foram divididos em seis grupos. Os grupos 1 e 2 foram raspados com ultra-som, os grupos 3 e 4 foram raspados com instrumentos periodontais manuais e os grupos 5 e 6 foram tratados com fresa esférica diamantada. Em seguida à instrumentação, nos grupos 2, 4 e 6, foi aplicado gel de

EDTA 24% por 2 minutos, e, nos grupos 1, 3 e 5, não foi aplicado gel. Através de análise em microscopia eletrônica de varredura, constatou-se que, independente da técnica utilizada, houve formação de “smear layer”. Observou-se também que o EDTA demonstrou eficiente remoção da “smear layer” e exposição de fibras colágenas em vários graus.

Os efeitos de diferentes tetraciclina, *in vitro*, sobre a superfície dentinária radicular instrumentada de dentes periodontalmente afetados de humanos, foram objeto de estudo de Madison & Hokett, em 1997. As diferentes tetraciclina foram aplicadas com bolinhas de algodão, sendo trocadas a cada 30 segundos e esfregadas com leve pressão nos seguintes períodos: 0,5, 1, 3, 5 e 10 minutos. A tetraciclina HCL (250mg/ml – pH 1,6) foi a que apresentou os melhores resultados, removendo a “smear layer” aos 30 segundos de aplicação. A doxiciclina (100mg/ml – pH 2,2) e a minociclina (100 mg/ml - pH 3,8)) apresentaram resultados similares, superiores aos da sumicina (125mg/5ml - pH 4,4) e inferiores aos da tetraciclina HCL. Os autores sugerem mais estudos para avaliar a concentração das soluções, o tempo de aplicação e a droga apropriada para melhor condicionamento da superfície radicular.

No mesmo ano, 1997, Babay avaliou, através de microscopia eletrônica de varredura, os efeitos da irrigação com ultra-som antes e depois do condicionamento radicular em dentes periodontalmente saudáveis extraídos de humanos. Seis grupos foram avaliados: 1) irrigação com soro fisiológico; 2) irrigação com ultra-som; 3 e 4) irrigação com soro fisiológico, mais condicionamento, por 3 minutos, com ácido cítrico (pH 1,0) ou com tetraciclina

hidroclorídrica (pH 1,8) respectivamente + nova irrigação com soro fisiológico, 5 e 6) irrigação com ultra-som, mais condicionamento, por 3 minutos, com ácido cítrico ou com tetraciclina HCL respectivamente + nova irrigação com ultra-som. Os grupos 3, 4, 5 e 6 apresentaram a superfície livre de “smear-layer”. Verificou-se ainda que 35% das amostras dos grupos 3 e 4, bem como a totalidade das amostras dos grupos 5 e 6, apresentaram exposição das fibrilas colágenas. Os resultados sugerem que a aplicação do ultra-som antes e depois do condicionamento com ácido é eficaz na remoção da “smear-layer” e na exposição de fibrilas colágenas.

Através de análise com microscopia eletrônica de varredura, Isik et al., em 1997, compararam os efeitos de diferentes métodos de desmineralização com tetraciclina HCL em superfícies dentinárias radiculares de dentes periodontalmente saudáveis de humanos. Blocos de dentina radicular foram submetidos a tratamento com solução de tetraciclina 0,5% g/ml (pH 2,1), por 5 minutos, por diferentes formas de aplicação: 1) imersão, 2) contato com bolinhas de algodão saturadas, 3) brunimento com bolinhas de algodão saturadas, 4) aplicação com pincel. As bolinhas de algodão foram trocadas a cada 30 segundos. As amostras tratadas por imersão (grupo 1) e aquelas tratadas por brunimento (grupo 3) apresentaram mais áreas com presença de “smear layer”, do que as amostras tratadas com pincel de camelo (grupo 4) e do que aquelas tratadas por contato com bolinhas de algodão saturadas com a tetraciclina (grupo 2). As amostras dos grupos 3 e 4 apresentaram orifícios dos túbulos mais largos do que

os encontrados nas amostras dos grupos 1 e 2, e o grupo 3 apresentou maior profundidade tubular de fibrilas do que os demais grupos.

As superfícies radiculares de dentes periodontalmente afetados de humanos foram submetidas a raspagem e aplicação de diferentes agentes químicos (solução salina; ácido cítrico -pH 1,0; tetraciclina HCL - pH 1,8; e, EDTA 8% - pH 7,3), por diferentes modos de aplicação (contato ou brunimento) e em diferentes períodos (10, 30, 40, 180 segundos). Neste estudo, *in vitro*, de Bergenholtz & Babay (1998), o ácido cítrico removeu a “smear layer” em um intervalo menor do que o EDTA e do que a tetraciclina HCL. O ato de fricção removeu mais eficientemente a “smear layer”, mas apresentou um rompimento das fibras colágenas, diferentemente dos grupos que, expostos ao contato com os agentes, apresentaram uma aparência fibrilar.

Utilizando microscopia eletrônica de varredura, Delazari et al. (1999) avaliaram, *in vitro*, as características da superfície radicular de dentes periodontalmente afetados de humanos, após raspagem radicular e aplicação tópica de tetraciclina HCL. O pH da solução de tetraciclina (TTC-HCL) era igual a 1.6, e esta substância foi aplicada nas superfícies radiculares com bolinhas de algodão, por brunimento, durante 4 minutos, sendo que as bolinhas foram trocadas a cada 30 segundos. As amostras foram divididas em 4 grupos: 1) apenas instrumentação periodontal (IP) (controle 1); 2) IP + TTC-HCL (teste 1); 3) IP + aplicação de solução de tripsina após a extração (controle 2); e, 4) IP + TTC-HCL + aplicação de solução de tripsina após extração (teste 2). Após instrumentação (grupos controles) ou instrumentação mais tratamento químico (grupos testes), as

superfícies foram enxaguadas, e os retalhos foram reposicionados e mantidos por 20 minutos, para permitir a adesão do coágulo sanguíneo. Os dentes foram, então, extraídos.

Os grupos controle 1 e teste 1 apresentaram a superfície radicular recoberta por células sanguíneas em uma rede de fibrina e não se observaram túbulos dentinários, nem fibras colágenas. A formação da rede de fibrina, *in situ*, não foi favorecida pela aplicação da TTC-HCl. No grupo teste 2, ficou comprovada a remoção da “smear layer”, ao contrário do grupo controle 2, em que se constatou sua presença.

Sampaio, em 1999, analisou através de microscopia eletrônica de varredura, a eficácia tanto dos detergentes lauril sulfato de sódio (grupo 2), mamona (grupo 3) e Plax (grupo 4), assim como do EDTA 24% (grupo 5) na remoção da “smear layer” criada após raspagem e aplainamento, em superfícies dentinárias radiculares de dentes extraídos de humanos. O grupo 1 recebeu aplicação de soro fisiológico, e o grupo 6 sofreu apenas raspagem e aplainamento radicular (grupos controles). As substâncias foram aplicadas com bolinhas de algodão, sendo estas trocadas a cada 30 segundos. Os grupos testes foram divididos em subgrupos, de acordo com os tempos de aplicação das substâncias: a) 1 minuto de aplicação, seguida da lavagem, com 10 ml de soro fisiológico; b) 2 minutos de aplicação e lavagem com 10 ml de soro fisiológico; c) 3 minutos de aplicação e lavagem com 10 ml de soro fisiológico; e, d) 1 minuto de aplicação, seguida de lavagem com 10 ml de soro, e repetição mais duas vezes deste procedimento.

As fotomicrografias demonstraram que o detergente lauril sulfato de sódio não removeu a “smear layer”. O Plax e o detergente de mamona não removeram a “smear layer” satisfatoriamente, porém tais resultados foram superiores aos resultados obtidos com o controle negativo e com o lauril sulfato de sódio. O EDTA 24%, pH neutro, mostrou ser eficiente na remoção da “smear layer”.

A comparação, através de microscopia eletrônica de varredura, da morfologia da superfície dentinária radicular de dentes periodontalmente saudáveis de humanos, que se seguiu à aplicação, por brunimento com bolinhas de algodão (sendo trocadas a cada 30 segundos), de diferentes concentrações de tetraciclina (0, 10, 25, 50, 75, 100, 125 e 150 mg/ml) em vários períodos (1, 3 e 5 minutos), foi objeto de estudo de Isik et al., em 2000. Os resultados demonstraram que o uso de tetraciclina HCL entre 50 e 150 mg/ml apresentaram aberturas dos túbulos dentinários estatisticamente significantes. Em todos os grupos, em 1, 3 e 5 minutos, foi demonstrada a remoção da “smear layer” da superfície dentinária, não sendo tempo-dependentes. Os autores sugerem que novos trabalhos devam ser realizados para estabelecer qual a extensão das alterações morfológicas capazes de prover ambiente biologicamente favorável para a terapia de regeneração periodontal.

Pilatti, em 2001, avaliou o grau de remoção da “smear layer” da superfície dentinária radicular de dentes extraídos e instrumentados de humanos, através do emprego de gel de EDTA em diferentes concentrações (5%, 10%, 15%, 20%, 24% e controle - soro fisiológico), diferentes períodos (1, 2 e 3 minutos) e

diferentes modos de aplicação (passivo ou por esfregação com pincel). Através de análise em microscopia eletrônica de varredura, os resultados demonstraram maior remoção da “smear layer” nos grupos tratados com gel de EDTA do que no grupo controle. Quando da aplicação de maneira passiva, o gel de EDTA a 5% proporcionou uma remoção mais efetiva da “smear layer”, em comparação às outras concentrações. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre as concentrações avaliadas, quando aplicadas ativamente. O tempo de aplicação de 3 minutos mostrou maior efetividade na remoção da “smear-layer” do que o tempo de 1 minuto. O autor também observou que, exceto para o gel de EDTA a 5%, a aplicação ativa mostrou-se superior à aplicação passiva nas demais concentrações avaliadas.

Proposição

O propósito deste trabalho foi avaliar a remoção da “smear layer” radicular criada pela raspagem e aplainamento, utilizando o cloridrato de tetraciclina, avaliando os seguintes critérios: diferentes concentrações, diferentes tempos e diferentes modos de aplicação.

Material e método

Seleção dos dentes

Molares de humanos foram obtidos da Clínica de Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, sendo a extração indicada por razões desconhecidas. Os dentes possuíam coroas e raízes livres de cáries. Após a extração, os dentes foram mantidos em soro fisiológico para não sofrerem ressecamento, sendo armazenados em estufa com temperatura constante de 37° C.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara (Anexo 1)

Obtenção das amostras

- Foram realizadas duas marcações nos dentes (Figura 1), com auxílio de uma fresa cilindro cônica de número 4.123 em alta rotação sob refrigeração, sendo que a primeira foi feita na junção cimento-esmalte, e a segunda marcação foi à quatro milímetros para apical da primeira. As marcações foram realizadas nas superfícies vestibular e lingual ou palatina dos dentes .
- Ainda com o auxílio da mesma fresa cilindro-cônica, foi removida, em todo o sentido mesio-distal, a camada superficial de cimento, entre as duas marcações realizadas.



Figura 1 – Demarcação prévia da amostra

- Cinquenta movimentos de raspagem e aplainamento radicular, com o auxílio de uma cureta 5-6 (Neumar) previamente afiada, foram realizados na área demarcada (Figura 2). Estes procedimentos tiveram como objetivos: remover toda a camada de cimento (Coldiron et al., 1990; O’Leary & Kafrawy, 1983); possibilitar exposição da dentina e dos túbulos dentinários, e, formar a “smear layer” (Sampaio, 1999).



Figura 2 – Raspagem e aplainamento radicular

- Os dentes foram seccionados transversalmente no primeiro e no segundo sulcos (Figura 3), e longitudinalmente no sentido de mesial para distal, (Figura 4) utilizando um disco diamantado em baixa rotação.



Figura 3 Secções transversais no primeiro e segundo sulcos



Figura 4 :Secção longitudinal

- As amostras possuíam aproximadamente 3 mm de largura por 4 mm de comprimento (Figura 5)

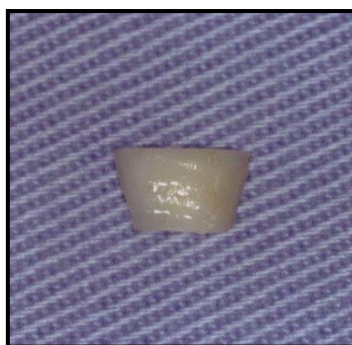


Figura 5 – Obtenção da amostra

- As amostras foram conservados em um recipiente com um pouco de soro fisiológico, para evitar ressecamento.

Distribuição e manipulação das amostras

- As amostras foram distribuídas ao acaso em cinco grupos, segundo o tipo de solução aplicada sobre a superfície radicular. E dentro de cada grupo, havia seis subgrupos, segundo o tempo e o modo de aplicação:

Grupos

Grupo 1: Aplicação de tetraciclina HCL 50 mg/ml

Grupo 2: Aplicação de tetraciclina HCL 125 mg/ml

Grupo 3: Aplicação de tetraciclina HCL 250 mg/ml

Grupo 4: Aplicação de tetraciclina HCL 500 mg/ml

Grupo 5: Aplicação de solução fisiológica

Subgrupos (dentro de cada grupo):

Subgrupo 1: contato durante 1 minuto

Subgrupo 2: contato durante 2 minutos

Subgrupo 3: contato durante 3 minutos

Subgrupo 4: fricção durante 1 minuto

Subgrupo 5: fricção durante 2 minutos

Subgrupo 6: fricção durante 3 minutos

Cada subgrupo continha 5 amostras, sendo que cada grupo totalizava 30 amostras. O estudo constou com 150 amostras, como mostra a tabela abaixo.

Tabela 1: Distribuição das amostras de acordo com o tipo de solução, de concentração, de tempo e de forma de aplicação.

Tipo / Concentração da solução	Aplicação por contato			Aplicação por fricção			Total
	Tempo de aplicação						
	1’	2’	3’	1’	2’	3’	
Controle (sol.fisiológica)	5	5	5	5	5	5	30
Tetraciclina 50 mg/ml	5	5	5	5	5	5	30
Tetraciclina 125 mg/ml	5	5	5	5	5	5	30
Tetraciclina 250 mg/ml	5	5	5	5	5	5	30
Tetraciclina 500 mg/ml	5	5	5	5	5	5	30
Total	30	30	30	30	30	30	150

- As soluções de cloridrato de tetraciclina foram manipuladas na Farmácia de Manipulação (Arte & Ciência, Araraquara- SP*), sendo que o pH das substâncias variou entre 1,8 e 2,8.
- A aplicação das substâncias foi realizada com o auxílio de bolinhas de algodão presas em uma pinça clínica (Duflex), sendo que as amostras estavam fixas em uma pinça hemostática (Neumar).

* Farmacêutica responsável: Dra. Tereza K. Handa. CRF-SP 11.624

- A aplicação por contato foi realizada com o auxílio de uma bolinha de algodão saturada com as soluções, a qual era depositada delicadamente sobre a superfície radicular. Este mesmo procedimento foi repetido a cada 30 segundos.
- A aplicação por fricção foi realizada com o auxílio de uma bolinha de algodão saturada com as soluções, sendo esta friccionada sobre a superfície radicular, e trocada a cada 30 segundos.
- As aplicações foram realizadas por um único pesquisador, sendo que o tempo foi cronometrado por um segundo pesquisador.
- Após as aplicações, as amostras foram enxaguadas com 10 ml de solução fisiológica, com o auxílio de uma seringa descartável.

Preparação das amostras para Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura

- As amostras foram armazenadas em copos plásticos descartáveis e codificadas de acordo com seu respectivo grupo e subgrupo. Foram mantidas nestes recipientes por dois dias, para a remoção do excesso de umidade.
- Posteriormente as amostras foram coladas em bases metálicas, utilizando uma mistura de grafite em pó com esmalte incolor. Logo após, todas as amostras foram submetidas a um processo de desidratação para retirar a umidade, através de um dessecador a vácuo, por uma semana.

- Utilizando o aparelho Bal-Tec SCD-050 (com o tempo de 120 segundos), foi realizada a metalização em ouro, com 99,99% de pureza, das amostras, resultando em uma película de 25 nanômetros, processo este que permitiu a leitura da superfície.
- Um microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM – T330A) foi utilizado para as fotomicrografias (Filme Neopan SS,120 – Fuji), com aumento de 750 vezes até 3500 vezes, com o intuito de verificar os efeitos das substâncias e suas variáveis, sobre a superfície radicular.
- A área selecionada para as fotomicrografias foi o centro da amostra.

Leitura das fotomicrografias

- As fotomicrografias foram avaliadas por um único examinador, previamente calibrado, sendo que este desconhecia a que grupo e subgrupo de tratamento pertencia a amostra. O grau de remoção da “smear layer” foi determinado por um índice proposto por Sampaio, em 1999. e modificado para aplicação no presente estudo:
 - Grau1: superfície radicular sem “smear layer”, com abertura total dos túbulos dentinários, sem indício de “smear layer” na abertura dos túbulos.
 - Grau 2: superfície radicular sem “smear layer”, com abertura total dos túbulos dentinários, com indícios de “smear layer” na abertura dos túbulos.

- Grau 3: superfície radicular sem “smear layer”, com abertura parcial dos túbulos dentinários.
 - Grau 4: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto uniforme, com características de hiperdesmineralização, com abertura parcial dos túbulos dentinários.
 - Grau 5: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto uniforme, com características de hiperdesmineralização, sem indício de abertura dos túbulos dentinários.
 - Grau 6: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto uniforme, apresentando indícios de abertura dos túbulos dentinários.
 - Grau 7: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto uniforme, sem indício de abertura dos túbulos dentinários.
 - Grau 8: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto irregular e presença de estrias e/ou de depósitos esparsos.
- No Anexo 2, seguem os resultados apresentados pelo examinador, em fichas apropriadas, com o índice atribuído a cada uma das amostras, após três leituras realizadas, com intervalo de uma semana entre elas.

Planejamento estatístico

Os objetivos delineados nesta pesquisa indicaram as inclusões das hipóteses que se seguem:

- As diferentes concentrações de tetraciclina induzem a diferentes respostas para a avaliação da “smear layer”, independentemente do modo de aplicação e do tempo de aplicação.
- Em cada tempo de aplicação da tetraciclina, ocorreram diferentes resultados da avaliação da “smear layer”, independentemente das concentrações e do modo de aplicação.
- Para cada modo de aplicação da tetraciclina, há um resultado específico para a avaliação da “smear layer”, independentemente das concentrações e do tempo de aplicação.
- As diferentes concentrações de tetraciclina analisadas em presença do modo de aplicação induzem a diferentes respostas para a avaliação da “smear layer”, independentemente do tempo de aplicação.
- Os modos de aplicações conjugados com os tempos induzem a diferentes respostas para a avaliação da “smear layer”, em cada concentração de tetraciclina.

As hipóteses estatísticas de nulidade, correspondentes a cada uma das hipóteses definidas acima, foram verificadas pela estatística (H) de Kruskal-Wallis, no nível de significância de 0,05, sendo que a regra de decisão foi construída com o auxílio da probabilidade de significância $p = P(H > H_0)$ —

probabilidade de que a estatística H seja maior do que seu valor observado H_0 nos dados da amostra — do modo que se segue: se p foi maior do que 0,05, a estatística H_0 foi não significativa, e a hipótese de nulidade sob teste foi não rejeitada; e, em caso contrário, se p foi igual ou menor do que 0,05, a estatística H_0 foi significativa, e a hipótese de nulidade sob teste foi rejeitada.

Os testes adicionais usados para detectar as diferenças significantes, quando da rejeição de uma hipótese de nulidade, foram realizados pela estatística Z Normal Reduzida, pela comparação entre o posto médio relativo a uma alternativa (uma concentração ou um tempo) e o posto médio geral.

Desde que as avaliações dos graus da “smear layer” foram mensuradas por um cirurgião dentista, em três ocasiões distintas, procurou-se verificar, primeiramente, se o mesmo estava calibrado, isto é, verificou-se se as avaliações que realizou nas três ocasiões foram reprodutíveis: o teste estatístico da reprodutibilidade dessas avaliações, foi realizado a partir da estatística Kappa de Fleis (K_f). A calibração do examinador, considerada muito satisfatória se K_f for igual a pelo menos 0,80, implicou na determinação do valor a ser usado na variável de análise que foi definida como: 1) o valor igual ao mais freqüente entre os atribuídos pelo examinador em cada ocasião para determinada situação; 2) o valor atribuído pelo examinador na terceira ocasião, uma vez que o mesmo achava-se mais experiente, se nas três ocasiões forem atribuídos específicos valores em determinada situação.

RESULTADO

A) RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados obtidos experimentalmente nas avaliações da “smear layer” encontram-se no Anexo 2.

B) ANÁLISE DOS RESULTADOS

B. 1) Avaliação da calibração do examinador

A aplicação da estatística Kappa, aos dados obtidos nos graus das avaliações da “smear layer” resultou na obtenção das proporções:

$$\overline{po} = 0,907$$

$$\overline{pe} = 0,190$$

Tem-se que: $\overline{po}$ é a proporção observada média de concordância entre as três avaliações feitas pelo examinador, isto é, em média, se a avaliação da “smear layer” em uma ocasião recebeu uma certa avaliação, em uma outra ocasião a chance dele atribuir a mesma avaliação a essa mesma limpeza foi de 90,7% e que $\overline{pe}$ é a proporção esperada média de concordância entre as três ocasiões de exames.

A estatística Kappa (K_f), que mede o grau ou coeficiente de concordância entre as três ocasiões, obtida a partir dos valores de $\overline{po}$ e de $\overline{pe}$, foi igual a $K_f = 0,885$ com desvio padrão dado por $s_K = 0,024$. Os limites

inferior e superior do intervalo de confiança a 95% para o verdadeiro valor de K_f foram dados por 0,838 e 0,932, respectivamente.

A estimativa por ponto do grau de concordância ($K_f = 0,885$) entre as três ocasiões permitiu afirmar-se que essas avaliações foram realizadas no mesmo sentido ou que em 88,5 % das vezes as avaliações atribuídas aos graus da “smear layer” foram concordes entre si, enquanto que a estimativa por intervalo do grau de limpeza permitiu a afirmação de que, com 95% de probabilidade de acerto, o verdadeiro grau de concordância entre essas ocasiões variou de 0,838 a 0,931 e que nessa estimação para K_f cometeu-se um erro de 0,047 para mais ou para menos. Esses resultados atestaram que o examinador apresentou concordância nas avaliações da limpeza, pois esse intervalo de confiança situou-se acima do valor estabelecido de 0,80, considerado muito satisfatório.

B.2) Concentração da tetraciclina HCL

Para a verificação da hipótese de nulidade, “as diferentes concentrações de tetraciclina induzem a iguais respostas para a avaliação da “smear layer”, independentemente do modo de aplicação e do tempo de aplicação”, foi construída a Tabela 2.

Tabela 2 - Frequência, mediana (MD), postos médios (PM), valores Z_o e p , para os dados de “smear layer” segundo concentração

Concentração	Freq.	M D	P M	Z_o	$p <$
50 mg/ml	30	5,50	65,6	- 1,40 n	0,162
125 mg/ml	30	5,00	57,5	- 2,54 s	0,012
250 mg/ml	30	4,00	59,8	- 2,21 s	0,028
500 mg/ml	30	5,00	65,3	- 1,44 n	0,150
0 mg/ml (SF)	30	8,00	129,3	7,59 s	0,001
Geral	150		75,5		

s = valor significante; ns = valor não significante.

Submetendo os dados da Tabela 2 à estatística de Kruskal-Wallis, obteve-se o valor $H_o = 58,32$, que foi significante, porque a ele correspondeu um valor $p < 0,001$ na distribuição de quiquadrado com 4 graus de liberdade. Assim, a hipótese de nulidade foi rejeitada, e a hipótese válida pelo teste foi a de que “as diferentes concentrações de tetraciclina induzem diferentes respostas para a avaliação da “smear layer”, independentemente do modo de aplicação e do tempo de aplicação”. O teste adicional realizado com a estatística Normal Reduzida Z , mostrou que, não levando em conta nem o tipo de aplicação, nem o tempo de aplicação da concentração, mostrou que: 1) as concentrações de 125 e 250 mg/ml induziram a iguais postos médios entre si e menores do que as das demais concentrações, isto é, apresentaram os menores valores da “smear layer” (Figuras 10 e 12); 2) as concentrações de 50 e 500 mg/ml (Figuras 8 e 14) induziram a

iguais postos médios entre si e menores do que o grupo controle, isto é, elas apresentaram valores da “smear layer” situados numa posição intermediária; 3) o grupo controle (Figuras 6 e 7) induziu o maior posto médio, o que caracterizou que os maiores valores da “smear layer” foram devidas a essa quantidade

B.3) Tempo de aplicação da tetraciclina HCL.

A Tabela 3 foi construída para verificar a hipótese de nulidade expressa por: “em cada tempo de aplicação da tetraciclina ocorreram resultados iguais para a avaliação da “smear layer”, independentemente das concentrações e do tipo de aplicação”.

Tabela 3 - Frequência, mediana (MD) e postos médios (PM) segundo tempo de aplicação

Tempo	Freq.	MD	PM
1 min	50	6,50	77,5
2 min	50	5,00	72,4
3 min	50	6,00	76,6
Geral	150		75,5

Os dados da Tabela 3 originaram o valor $H_0 = 0,42$, que foi não significativo, pois a ele se associou o valor $p < 0,811$ na distribuição de quiquadrado com 2 graus de liberdade. Assim, houve evidência amostral para não

rejeitar a hipótese explicitada, isto é, os tempos de aplicação não influenciaram a ocorrência de diferentes valores da “smear layer”.

B.4) Modo de aplicação da tetraciclina HCL

A Tabela 4 foi construída para verificar a hipótese de nulidade expressa por: “não há um específico resultado para a avaliação da “smear layer” para cada modo de aplicação da tetraciclina, independentemente das concentrações e do tempo de aplicação”.

Tabela 4 - Frequência, mediana (MD) e postos médios (PM) segundo modo de aplicação

Aplicação	Freq.	MD	PM
Contato	75	7,00	92,0
Fricção	75	4,00	59,0
Geral	150		75,5

Os dados da Tabela 4 originaram o valor $H_0 = 22,62$, que foi significativo, pois a ele se associou o valor $p < 0,001$ na distribuição de quiquadrado com 1 grau de liberdade. Assim, houve evidência amostral para rejeitar a hipótese explicitada acima, e os postos médios indicam que os maiores valores das avaliações da “smear layer”, não levando em conta nem a concentração de tetraciclina nem o tempo de aplicação, foram originadas devido à

aplicação por contato (Figuras 11,13 e 15), e os menores, devido à aplicação por fricção (Figuras 9, 10, 12 e 14).

B.5) Concentração x Modo de aplicação da tetraciclina HCL

Para verificar a hipótese estatística de que “as diferentes concentrações de tetraciclina analisadas em presença do modo de aplicação induzem iguais respostas para a avaliação da “smear layer”, independentemente do tempo de aplicação”, foi construída a Tabela 5.

Tabela 5 - Frequência, mediana (MD), postos médios (PM), valores Z_o e p para os dados de “smear layer” segundo concentração/aplicação.

Conc./Aplicação	Freq.	M D	P M	Z_o	$p <$
50 mg/ml / C	15	7,00	87,4	1,12 n	0,263
50 mg/ml / F	15	4,00	43,8	- 2,98 s	0,003
125 mg/ml / C	15	7,00	75,5	0,00 n	1,000
125 mg/ml / F	15	4,00	39,5	- 3,38 s	0,001
250 mg/ml / C	15	7,00	81,9	0,60 n	0,548
250 mg/ml / F	15	4,00	37,8	- 3,55 s	0,001
500 mg/ml / C	15	7,00	80,9	0,50 n	0,618
500 mg/ml / F	15	4,00	49,7	- 2,42 s	0,016
0 mg/ml / C	15	8,00	134,5	5,54 s	0,001
0 mg/ml / F	15	8,00	124,1	4,57 s	0,001
Geral	150		75,5		

s = valor significante; ns = valor não significante.

Os dados da Tabela 5 derivaram o valor $H_0 = 86,54$, que foi significativo, porque a ele se correspondeu o valor $p < 0,001$ na distribuição de quiquadrado com 9 graus de liberdade. Assim, a amostra evidenciou que as diferentes concentrações de tetraciclina analisadas em presença do tipo de aplicação induzem a diferentes respostas para a avaliação da “smear layer”, independentemente do tempo de aplicação, e o teste adicional indicou que as concentrações aplicadas com fricção (Figuras 9, 10, 12 e 14) originaram valores da “smear layer” estatisticamente iguais entre si e menores do que as originadas com as das concentrações aplicadas por contato (Figuras 11, 13 e 15), que também foram estatisticamente iguais entre si, e que as concentrações controle, aplicadas por contato ou por fricção, originaram os maiores valores da “smear layer” e estatisticamente iguais entre si.

B.6) Concentração x Tempo x Modo de aplicação da tetraciclina HCL

A verificação da hipótese que afirma que “os modos de aplicações conjugados com os tempos induzem a iguais respostas para a avaliação da “smear layer” em cada concentração de tetraciclina”, foi realizada de acordo com os dados da Tabela 6.

Tabela 6 - Frequência, mediana e postos médios da “smear layer” nos modos de aplicação e tempos segundo concentração

Concen- Tração	Aplicação/ Tempo	Posto			
		Mediana	Médio	Zo	p <
50 mg/ml	C / 1 min	7,00	21,2	1,59n	0,112
	C / 2 min	7,00	20,0	1,25n	0,212
	C / 3 min	7,00	19,0	0,97n	0,333
	F / 1 min	2,00	5,7	- 2,73s	0,007
	F / 2 min	4,00	12,3	- 0,89n	0,374
	F / 3 min	4,00	14,8	- 0,19n	0,850
125 mg/ml	C / 1 min	7,00	22,9	2,06 s	0,040
	C / 2 min	7,00	20,5	1,39 n	0,165
	C / 3 min	5,00	16,2	0,19 n	0,850
	F / 1 min	2,00	7,3	- 2,28 s	0,023
	F / 2 min	4,00	12,4	- 0,86 n	0,390
	F / 3 min	4,00	13,7	- 0,50 n	0,618
250 mg/ml	C / 1 min	7,00	24,2	2,42 s	0,016
	C / 2 min	3,00	12,5	- 0,83 n	0,407
	C / 3 min	7,00	21,1	1,56 n	0,119
	F / 1 min	4,00	13,4	- 0,58 n	0,562
	F / 2 min	4,00	12,0	- 0,97 n	0,332
	F / 3 min	4,00	9,8	- 1,59 n	0,112

Continua

Continuação

	C / 1 min	7,00	23,6	2,25 s	0,025
	C / 2 min	7,00	16,2	0,19 n	0,850
500 mg/ml	C / 3 min	7,00	22,5	1,96 s	0,050
	F / 1 min	5,00	11,3	- 1,17 n	0,243
	F / 2 min	4,00	9,7	- 1,61 n	0,108
	F / 3 min	4,00	9,7	- 1,61 n	0,108
Geral			15,5		
Frequência de cada condição experimental = 5					
s = valor significante; ns = valor não significante					

Na Tabela 6, observou-se que houve evidência amostral para se rejeitar a hipótese sob teste, pois:

- na concentração de 50 mg/ml, obteve-se o valor $H = 12,02$, que foi significativa, pois a ele correspondeu o valor de $p < 0,035$ na distribuição de quiquadrado com 5 graus de liberdade. O teste adicional Z Normal mostrou que os menores valores da “smear layer” aglomeraram-se ao redor do posto médio 5,7, que foi obtido com a aplicação por fricção no tempo de 1 min (Figura 9), enquanto que os maiores valores da “smear layer” mesclaram-se entre si ao redor dos postos médios relativos às demais condições do modo de aplicação e do tempo, os quais foram estatisticamente iguais entre si, porque os correspondentes valores observados (Z_o) da estatística Z foram não significantes ($p > 0,05$).

- na concentração de 125 mg/ml, obteve-se o valor $H = 11,07$ que foi significativo, pois a ele correspondeu o valor de $p < 0,049$ na distribuição de quiquadrado com 5 graus de liberdade. O teste adicional Z Normal mostrou que os maiores valores da “smear layer” aglomeraram-se ao redor do posto médio 22,9, que foi obtido com a aplicação por contato, no tempo de 1 min ($p < 0,05$; Figura 11); os menores valores da “smear layer” ao redor do posto médio 7,3 ($p < 0,05$), que foi obtido com a aplicação por fricção, no tempo de 1 min (Figura 10); os valores intermediários da “smear layer” mesclaram-se entre si ao redor dos postos médios relativos às outras condições do modo de aplicação e do tempo, os quais foram estatisticamente iguais entre si, porque os correspondentes valores observados (Z_o) da estatística Z foram não significantes ($p > 0,05$).
- na concentração de 250 mg/ml, obteve-se o valor $H = 11,77$, que foi significativo, pois a ele correspondeu o valor de $p < 0,038$ na distribuição de quiquadrado com 5 graus de liberdade. O teste adicional Z Normal mostrou que os maiores valores da “smear layer” aglomeraram-se ao redor do posto médio 24,2, que foi obtido com a aplicação por contato, no tempo de 1 min (Figura 13), enquanto que os menores valores da “smear layer” mesclaram-se entre si ao redor dos postos médios relativos às demais condições do tipo de aplicação e do tempo, os quais foram estatisticamente iguais entre si, porque os correspondentes valores observados (Z_o) da estatística Z foram não significantes ($p > 0,05$).

- na concentração de 500 mg/ml, obteve-se o valor $H = 13,80$, que foi significativo, pois a ele correspondeu o valor de $p < 0,017$ na distribuição de qui-quadrado com 5 graus de liberdade. O teste adicional Z Normal mostrou que os maiores valores da “smear layer” aglomeraram-se ao redor dos postos médios 23,6 e 22,5, que foram obtidos com a aplicação por contato, nos tempos de 1 e 3 min (Figura 15), os quais foram estatisticamente iguais entre si ($p < 0,05$); os menores valores da “smear layer” ao redor dos postos médios relativos às outras condições do modo tipo de aplicação e de tempo, os quais foram estatisticamente iguais entre si, porque os correspondentes valores observados (Z_o) da estatística Z foram não significantes ($p > 0,05$).

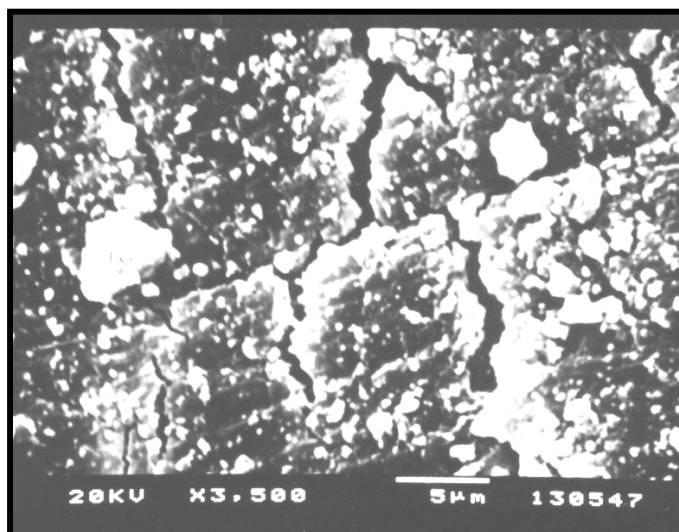


Figura 6- Fotomicrografia do grupo 5, subgrupo 2. Grau 8: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto irregular e presença de estrias e/ou de depósitos esparsos.

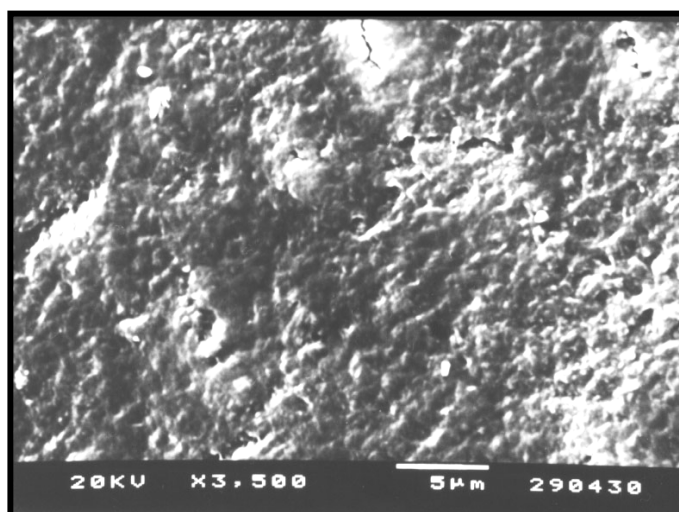


Figura 7: Fotomicrografia do grupo 5, subgrupo 4. Grau 8: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto irregular e presença de estrias e/ou de depósitos esparsos.

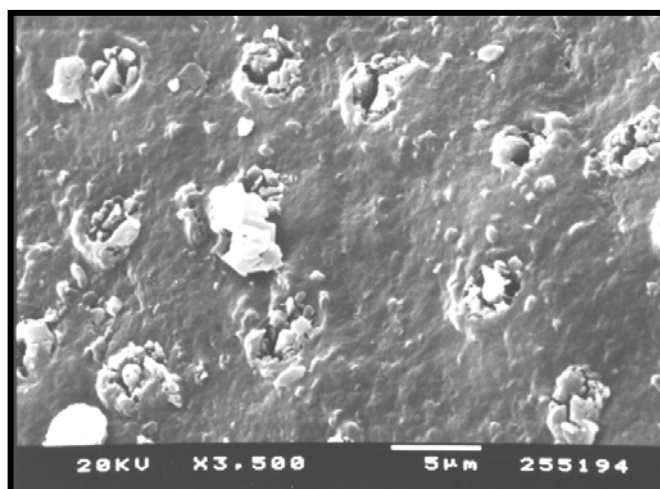


Figura 8 : Fotomicrografia do grupo 1, subgrupo 5. Grau 4: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto uniforme, com características de hiperdesmineralização, com abertura parcial dos túbulos dentinários.

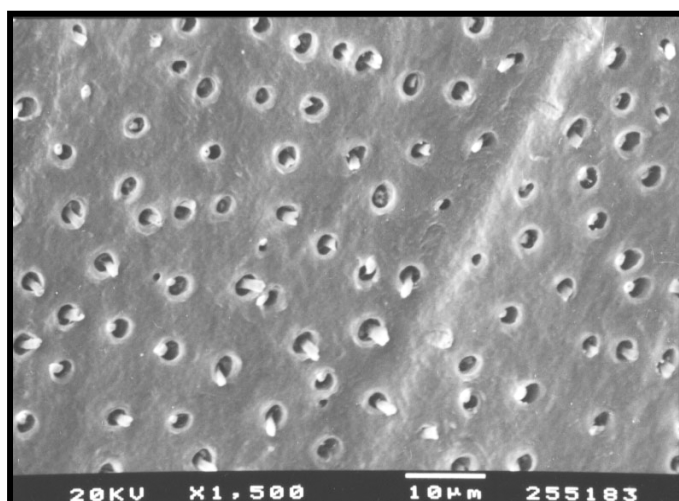


Figura 9: Fotomicrografia do grupo 1, subgrupo 4. Grau 1: superfície radicular sem “smear layer”, com abertura total dos túbulos dentinários, sem indício de “smear layer” na abertura dos túbulos.

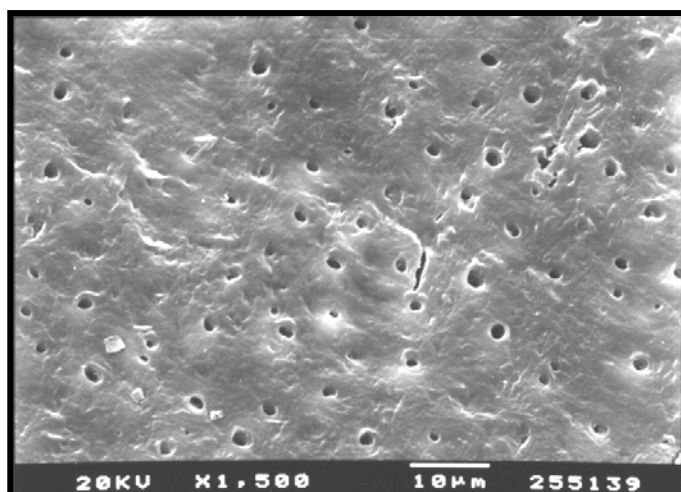


Figura 10 : Fotomicrografia do Grupo 2, subgrupo 4. Grau 1: superfície radicular sem “smear layer”, com abertura total dos túbulos dentinários, sem indício de “smear layer” na abertura dos túbulos.

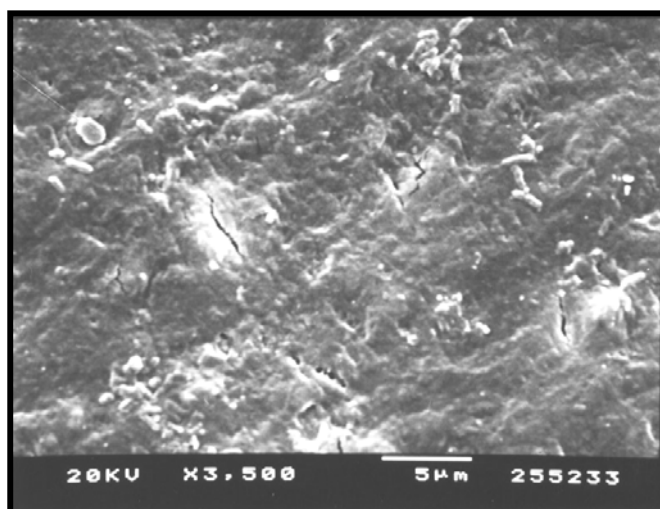


Figura 11: Fotomicrografia do Grupo 2, Subgrupo 1. Grau 7: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto uniforme, sem indício de abertura dos túbulos dentinários.

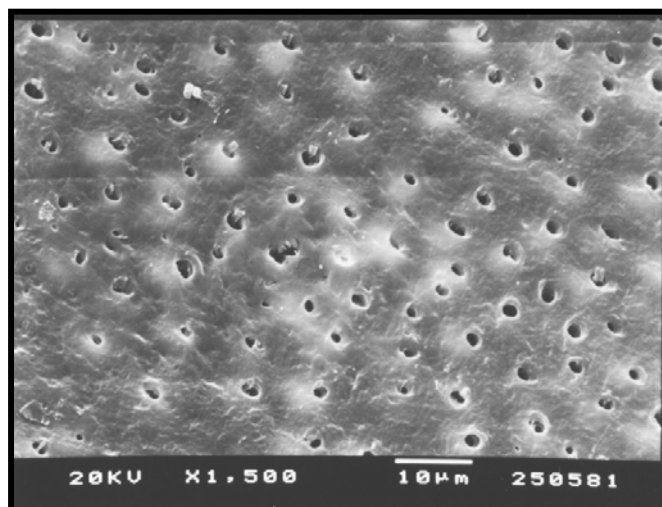


Figura 12: Fotomicrografia do Grupo 3, Subgrupo 4. Grau 1: superfície radicular sem “smear layer”, com abertura total dos túbulos dentinários, sem indício de “smear layer” na abertura dos túbulos.

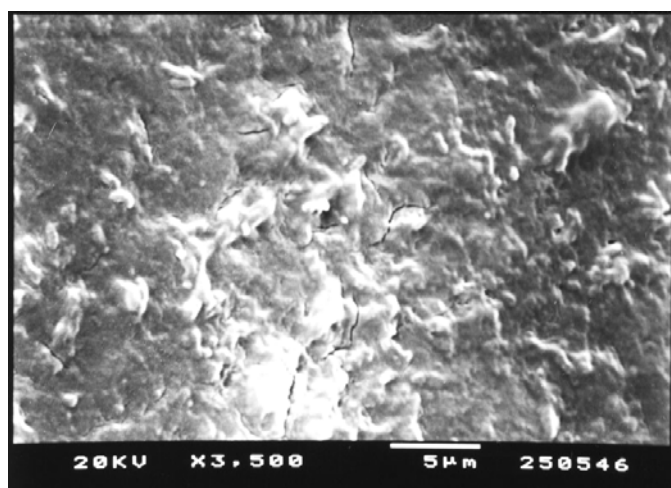


Figura 13 : Fotomicrografia do Grupo 3, subgrupo 1. Grau 8: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto irregular e presença de estrias e/ou de depósitos esparsos.

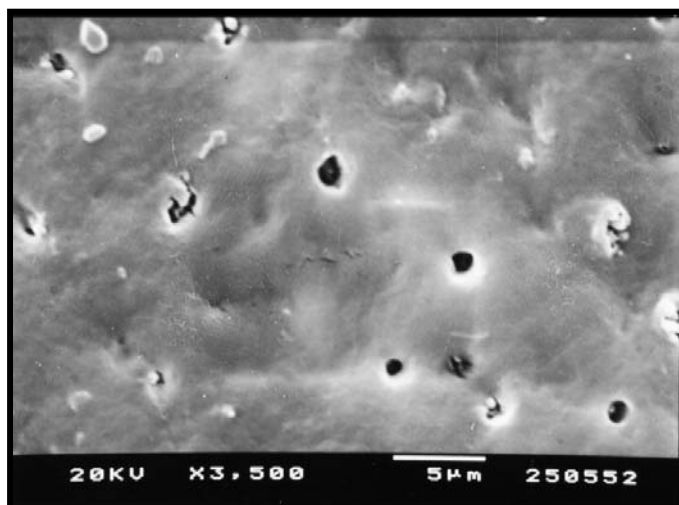


Figura 14 : Fotomicrografia do grupo 4, subgrupo 4. Grau 4: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto uniforme, com características de hiperdesmineralização, com abertura parcial dos túbulos dentinários.

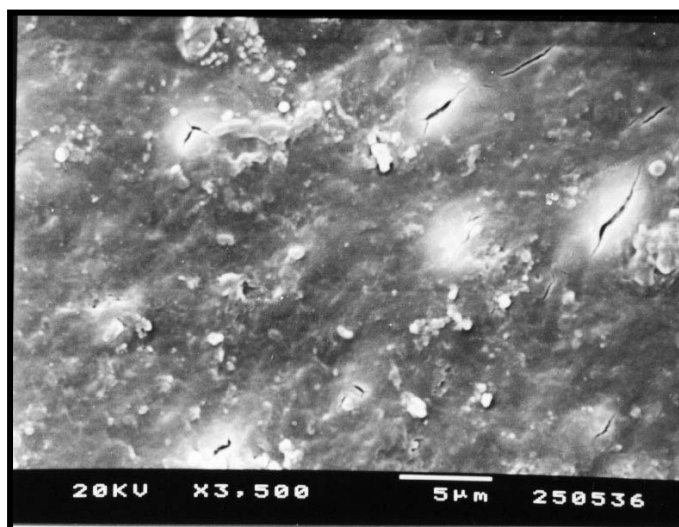


Figura 15 : Fotomicrografia do Grupo 4, subgrupo 1. Grau 7: superfície radicular coberta por “smear layer”, com aspecto uniforme, sem indício de abertura dos túbulos dentinários.

Discussão

Um dos objetivos da terapia periodontal é transformar a superfície radicular contaminada pela placa bacteriana e alterada pelos processos biológicos da doença periodontal, em um meio biologicamente compatível, capaz de prover regeneração dos tecidos afetados (Polson & Proye, 1983; Genco et al., 1990). Estas superfícies contaminadas podem apresentar-se hipermineralizadas (Selvig & Zander 1962; Selvig & Hals, 1977) e conter citotoxinas (Hatfield & Baumhammers, 1971). Muitas vezes, não é possível descontaminar estas superfícies apenas com métodos mecânicos, como por raspagem e aplainamento radicular (Jones & O' Leary, 1978). Além das limitações da instrumentação periodontal, temos, como consequência deste procedimento, a formação da “smear layer” (Polson et al., 1984).

A “smear layer” consiste em material orgânico e inorgânico, resultado da instrumentação periodontal e/ou por instrumentos rotatórios (Brannstrom & Johnson, 1974; Polson et al., 1984), geralmente com espessura entre 2 e 5 μm (Brännström & Johnson, 1974). A presença desta camada entre o dente e os tecidos periodontais tem sido sugerida como uma barreira tanto impedindo nova inserção após instrumentação periodontal (Polson et al., 1984), quanto dificultando a terapêutica para hipersensibilidade dentinária cervical, uma vez que dificulta a penetrabilidade das substâncias medicamentosas nos túbulos dentinários (Kerns et al., 1991; Fogel & Pashley, 1993). Substâncias químicas têm sido empregadas na superfície radicular, com o intuito de remover a “smear layer”

(Leidal. & Ericksen., 1979; Blomlöf et al., 1997a; Sterrett, et al., 1997; Codelli et al., 1991; Sampaio, 1999; Pilatti, 2001). A aplicação tópica destas substâncias em superfícies radiculares promove a desmineralização, removendo a “smear layer”, expondo fibrilas colágenas e levando à abertura dos túbulos dentinários (Hanes et al., 1991). Diversos estudos têm sugerido que uma superfície radicular com fibras colágenas e sem resíduos oferece mecanismos biológicos capazes de acelerar a formação de uma nova inserção (Register & Burdick, 1975; Garrett, et al., 1978; Polson & Proye, 1982; Polson & Proye, 1983; Sterrett & Murphy, 1989). Estes mecanismos incluem a união de colágeno, a indução de células mesenquimais, a adesão de fibronectina e a inserção de fibroblastos (Sterrett et al., 1989).

Entre as substâncias aplicadas, temos o ácido fosfórico (Leidal & Ericksen, 1979; Héritier, 1984), o ácido cítrico (Register, 1973; Willey & Steinberg, 1984; Codelli et al., 1991), a tetraciclina (Bjorvatn, 1983; Sterrett et al., 1997), o EDTA (Blomlöf et al., 1996; Blomlöf et al., 1997a; Blomlöf et al., 1997c; Pilatti, 2001) e detergentes (Sampaio, 1999).

Em estudos iniciais utilizando para condicionamento radicular o ácido cítrico, Register obteve como resultados nova inserção conjuntiva e cementogênese (Register, 1973; Register & Burdick, 1975; Register & Burdick, 1976). Aplicações tópicas deste ácido em superfícies radiculares produziram uma zona de desmineralização, expondo fibrilas colágenas e promovendo a abertura dos túbulos dentinários (Sterrett & Murphy, 1989; Sterret et al., 1989; Wen et al., 1992; Sterrett et al., 1995). Apesar destes resultados positivos, Bogle et al., em 1985, observaram que a aplicação deste ácido na superfície radicular pode levar à

reabsorção irreversível e à anquilose, além da necrose dos tecidos periodontais (Blomlöf, 1995a).

Blomlöf & Lindskog, em 1995b, avaliaram a textura da superfície radicular, após a aplicação de diferentes substâncias (ácido cítrico, fosfórico ou EDTA). Verificaram que todas as substâncias removeram a “smear layer”, mas que apenas o EDTA promoveu exposição de matriz de colágeno, ao passo que as outras substâncias sugeriram ter removido esta matriz. Resultados similares obtidos por Blomlöf, em 1996, mostraram que o EDTA preservou a integridade das fibras colágenas expostas, enquanto o ácido cítrico não preservou o arranjo tridimensional destas, e o ácido fosfórico parece, por sua vez, ter provocado erosões nas superfícies radiculares. O EDTA conta ainda com a vantagem de não necrosar células periodontais, quando de sua aplicação tópica em superfícies radiculares, diferentemente de algumas substâncias com pH baixo (Blomlöf & Lindskog, 1995a; Blomlöf et al., 1995). Estes resultados positivos apresentados pelo EDTA provavelmente ocorreram devido ao pH neutro desta substância, o qual é diferente dos outros ácidos, que apresentam pH baixo.

Sampaio (1999), ao avaliar diferentes detergentes quanto à sua capacidade de remoção da “smear-layer”, verificou que o detergente lauril sulfato de sódio não removeu a “smear layer”, e que o Plax^R e o detergente de mamona apresentaram resultados semelhantes, mas não tão satisfatórios quanto os obtidos com o EDTA 24%.

A tetraciclina também vem sendo estudada nos últimos anos (Golub et al., 1984; Wikesjö et al., 1986). As tetraciclinas fazem parte de um

grupo de antimicrobianos bacteriostáticos efetivos contra uma gama variada de microrganismos. Os estudos com tetraciclina mostraram vários benefícios: melhora a inserção e a proliferação de fibroblastos gengivais em superfícies radiculares condicionadas com esta substância (Terranova et al., 1986, Babay 2001), a atividade anti-colagenase (Golub et al., 1984) e a alta substantividade (Wikesjö et al., 1986). Além disso, Bal et al., em 1990, verificaram que a organização do coágulo inicial ocorreu mais rapidamente nas áreas tratadas com raspagem radicular associada ao condicionamento com tetraciclina, do que naquelas tratadas com ácido cítrico. Segundo os autores, a razão para a rápida formação do coágulo no grupo tratado com tetraciclina foi provavelmente a propriedade de desmineralização e o efeito antibacteriano desta substância. Polson & Proye, em 1983, sugeriram que a união da fibrina com o colágeno existente na superfície radicular é muito importante para o sucesso de uma nova inserção. A tetraciclina também possibilita a neoformação cementária com neoformação de inserção (Alger et al., 1990; Dyer et al., 1993) .

Por causa das vantagens da tetraciclina, citadas, em relação aos demais agentes químicos, e ainda por causa de sua eficácia na remoção da “smear layer” e na exposição de fibras colágenas (Wikesjö et al., 1986; Trombelli et al., 1994; Trombelli et al., 1995; Madison & Hokett, 1997; Isik et al., 1997; Delazari et al., 1999; Isik et al., 2000), foi nosso intuito avaliar neste estudo, os resultados obtidos após a aplicação tópica da tetraciclina em diferentes concentrações, diferentes tempos, e diferentes modos de aplicação, *in vitro*, na superfície dentinária radicular.

No nosso estudo, as amostras das superfícies radiculares de dentes de humanos foram desgastadas com fresa em alta rotação, previamente a raspagem e aplainamento radicular, para termos certeza da remoção da camada de cemento e exposição da dentina subjacente. A raspagem radicular foi realizada com curetas de Gracey, sendo que, em estudo anterior, este procedimento levou a formação da “smear layer” (Sampaio, 1999). Aplicando o agente condicionante nas amostras desgastadas e raspadas, preparando-as para análise em microscopia eletrônica de varredura, segundo nossa metodologia, e seguindo a leitura das fotomicrografias segundo um Índice Modificado de Sampaio (Sampaio, 1999) verificamos a presença ou a ausência da “smear layer”, a abertura ou não de túbulos dentinários e outros aspectos como a hiperdesmineralização.

As variáveis estudadas (concentração, tempo e modo de aplicação do cloridrato de tetraciclina) foram avaliadas separadamente e também mesclando-se os resultados.

Em relação à concentração de tetraciclina, independentemente do tempo e do modo de aplicação da substância, as quantidades de 125 e de 250 mg/ml apresentaram maior capacidade de remoção da “smear layer” (Figuras 10 e 12, Tabela 2). As quantidades de 50 e 500 mg/ml apresentaram valores intermediários quanto a remoção da “smear layer” (Figuras 9 e 14, Tabela 2) e o pior resultado ocorreu no grupo onde foi aplicado o soro fisiológico (Figuras 6 e 7, Tabela 2). Porém quando juntaram-se as variáveis da concentração da droga, do modo de aplicação e do tempo, observamos os menores valores de “smear layer”,

quando aplicaram-se 50 mg/ml por fricção por 1 minuto (Figura 9, Tabela 6) e 125 mg/ml por fricção por 1 minuto (Figura 10, Tabela 6).

Hanes et al., em 1991, também verificaram resultados não muito favoráveis ao uso tetraciclina, pois, a solução de tetraciclina HCL 0,5% usada não removeu a “smear layer” satisfatoriamente, sugerindo-se a utilização de maior concentração da mesma.

Já no estudo de Wikesjö et al., em 1986, foi utilizada tetraciclina de 10, 25, 50, 75, 100, 150 e 200 mg/ml. Os resultados demonstraram que as superfícies imersas em 10 ou 100 mg/ml apresentaram remoção da “smear layer” e exposição dos túbulos dentinários; porém, é de nossa opinião que o modo de aplicação por imersão não é adequado para utilização *in vivo*.

Independentemente das concentrações da tetraciclina, de 62,5 e de 125 mg/ml no estudo de Trombelli (1994) e de 10 e de 100 mg/ml no estudo de Trombelli et al. (1995), aplicadas sobre superfícies radiculares, os resultados quanto à abertura de túbulos dentinários foram considerados satisfatórios. Isik et al., em 2000, obtiveram como resultado a abertura dos túbulos dentinários, quando desmineralizada a superfície radicular com tetraciclina HCL, entre as concentrações de 50 e 150 mg/ml.

Observamos que, em nosso estudo, foram necessárias maiores concentrações de tetraciclina para melhor remoção da “smear layer”, quando comparamos com outros estudos. Uma possível explicação para tal fato seria a quantidade e a qualidade da “smear layer” criada. Nos estudos de Trombelli et al. (1994 e 1995) e no de Isik et al. (2000), a “smear layer” foi criada pela utilização

de fresas. No estudo de Wikesjö et al.(1986), a “smear layer” foi criada pela utilização de lixa. Já no nosso estudo, a “smear layer” foi criada pela utilização de fresas e 50 movimentos de raspagem e aplainamento radicular.

Outra questão que pode ser levantada é a falta de padronização de um índice de remoção da “smear layer”. Sendo assim, o valor atribuído em um estudo como sendo satisfatório para a remoção da “smear layer”, pode em outro estudo não ter o mesmo valor. Podemos questionar também a falta de padronização da solução de tetraciclina utilizada, sendo esta manipulada de diferentes maneiras, e podendo ter diferentes pHs.

Quando a variável tempo de aplicação da tetraciclina foi analisada, não houve diferenças nos graus de “smear layer” apresentados (Tabela 3). Isik et al., em 2000, também verificaram que a remoção da “smear layer” radicular, após aplicação de tetraciclina em diferentes concentrações e em três intervalos (1,3 e 5 minutos), não foi tempo-dependente.

Porém, a desmineralização da superfície dentinária radicular apresentou-se tempo-dependente em vários estudos, quando aplicadas diferentes substâncias químicas, como o ácido cítrico e a tetraciclina HCL (Labahn et al., 1992) soluções de tetraciclina HCL (Trombelli et al., 1994; Trombelli et al., 1995), o ácido cítrico, o ácido fosfórico e o EDTA (Blomlöf & Lindskog, 1995b),ou o EDTA (Pilatti, 2001). Assim, quanto maior o tempo de aplicação, como o de 4 minutos (Labahn et al., 1992; Trombelli et al., 1994; Trombelli et al., 1995), maior foi a remoção da “smear layer”.

Também observamos dados da literatura sugerindo que, se o intervalo de tempo for extenso, inicialmente pode ocorrer a remoção da “smear layer”, e, sucessivamente, uma nova formação, devido ao ato da fricção constante (Sampaio, 2001). Frente aos divergentes resultados encontrados na literatura quanto ao tempo de aplicação, novos estudos são necessários.

Diferentes modos de aplicação das substâncias químicas foram verificados em vários trabalhos: por gotejamento (Labahn et al., 1992), por contato (Sterrett & Bain, 1987; Sterrett & Murphy, 1989; Sterrett et al., 1989; Codelli et al., 1991; Sterrett et al., 1995), por fricção (Lafferty et al., 1993; Madison & Hokett, 1997; Sampaio, 1999), por brunimento (Trombelli et al., 1994; Trombelli et al., 1995; Delazari et al., 1999), por imersão (Wikesjö et al., 1986; Isik et al., 1997) e com pincel (Wen et al., 1992; Isik et al., 1997; Pilatti, 2001).

Em nosso trabalho, segundo a variável do modo de aplicação, comparamos o método por contato e por fricção. No grupo controle (soro fisiológico), os dois modos de aplicação foram estatisticamente semelhantes (Figuras 6 e 7, Tabela 5), mas, quando da aplicação da tetraciclina, observamos que a aplicação por fricção apresentou melhor capacidade de remoção da “smear layer” do que a aplicação por contato (Figuras10, 11, 12, 13, 14, 15; Tabela 4 e 5).

Também comparando o modo de aplicação (por contato ou por brunimento), quando aplicou-se o ácido cítrico em superfícies dentinárias radiculares, Sterrett & Bain em 1987, verificaram que ambos os grupos

apresentaram abertura dos túbulos dentinários, sendo que o brunimento removeu mais material inorgânico. Resultado similar foi obtido por Sterrett & Murphy, em 1989, sendo que, além de maior remoção de material inorgânico, verificou-se maior exposição de fibras colágenas, quando do brunimento de superfícies radiculares com ácido cítrico do que quando do contato com este ácido. Sterrett et al., em 1995, além de compararem a aplicação do ácido cítrico por contato e por brunimento vigoroso, verificaram os resultados por fricção leve. Todos os grupos apresentaram remoção da “smear layer”, mas a exposição de fibras colágenas foi melhor nos grupos que sofreram a aplicação ativa (por fricção ou por brunimento). Estes resultados sugerem que o ato mecânico do brunimento e a ação química das substâncias removem mais eficazmente a “smear layer”.

Bergenholtz & Babay, em 1998, verificaram que o ato de fricção com certos agentes químicos (EDTA, tetraciclina HCL e ácido cítrico) removeu mais eficazmente a “smear layer”, porém provocou um rompimento das fibras colágenas, diferentemente da aplicação por contato, que conferiu à superfície radicular uma aparência fibrilar. Sterrett et al., em 1989, também verificaram resultados similares, já que ambos os modos de aplicação do ácido cítrico (por contato ou fricção) removeram a “smear layer”, porém a fricção resultou em fissuras na superfície radicular e, fibrilas colágenas ocasionalmente foram encontradas. Estes resultados sugerem que o ato de brunimento rompeu e removeu a camada de colágeno.

Pilatti, em 2001, utilizando o EDTA nas concentrações de 5, 10, 15, 20 e 24%, verificou que, exceto para a primeira, as demais concentrações

removeram mais eficazmente a “smear layer”, quando aplicadas de maneira ativa (com pincel). Estes resultados sugerem que há uma combinação da ação química do ácido com a ação mecânica do pincelamento, forçando um maior contato da substância com a dentina, reduzindo o inconveniente da maior viscosidade do gel de EDTA nas concentrações mais elevadas.

Já outros trabalhos verificaram que o modo de aplicação das substâncias não interfere na quantidade de “smear layer” removida. Quando se compararam diferentes modos de aplicação, entre os quais, o gotejamento e o brunimento, Labahn et al., em 1992, não encontraram maiores diferenças na morfologia das superfícies radiculares condicionadas com tetraciclina ou com ácido cítrico. No estudo de Blomlöf & Lindskog, em 1995b, em que se compararam a embebição ou a fricção com bolinhas de algodão saturadas com diferentes substâncias (ácido cítrico, ácido fosfórico e EDTA), ambos os modos de aplicação removeram a “smear layer” radicular.

Entretanto, Wen et al., em 1992, apresentaram resultados menos favoráveis, quando o ácido cítrico foi aplicado por brunimento à superfície radicular. Estes autores verificaram a presença da “smear layer”, com total ou com parcial obliteração dos túbulos dentinários, após a aplicação do ácido por brunimento. Este foi um resultado comparável com o de Isik et al., em 1997, já que a aplicação de tetraciclina por brunimento ou por imersão apresentou mais áreas com “smear layer” do que quando aplicada por contato ou com pincel.

A divergência de resultados quanto ao modo de aplicação pode estar associada a uma falta de padronização da quantidade de força aplicada,

quando do ato de brunimento, assim como às diferentes substâncias aplicadas, a seus diferentes pH e tempos de aplicação.

Quando se mesclaram as variáveis: da concentração da droga, do modo de aplicação e do tempo, observamos os menores valores de “smear layer”, quando aplicaram-se 50 mg/ml por fricção por 1 minuto (Figura 9, Tabela 6) e 125 mg/ml por fricção por 1 minuto (Figura 10, Tabela 6). Os piores resultados foram verificados quando da concentração de 125 mg/ml por contato por 1 minuto (Figura 11, Tabela 6), 250 mg/ml por contato por 1 minuto (Figura 13, Tabela 6) e 500 mg/ml por contato por 1 e 3 minutos (Figura 15, Tabela 6). Observamos então que concentrações menores (50 e 125 mg/ml) em menor intervalo de tempo (1 minuto) e a aplicação por fricção são os tratamentos de eleição para a tetraciclina.

Sugere-se que as diferenças encontradas na morfologia das superfícies radiculares desmineralizadas, nos estudos apresentados, estão relacionadas à extensão da instrumentação; ao tipo, à concentração e ao pH das soluções aplicadas; ao modo de aplicação destas; ao tempo de exposição ao agente desmineralizante; ou, a uma combinação destas variáveis (Babay, 1997; Lafferty et al., 1993). Um outro fator que também interfere nos resultados das superfícies condicionadas é a presença, ou não, de doença periodontal prévia sobre o dente avaliado. Segundo Selvig, em 1969, as superfícies periodontalmente afetadas podem apresentar-se hipermineralizadas, com menos túbulos dentinários e com diâmetros menores (Wen et al., 1992).

Dentro do raciocínio de que a desmineralização, promovendo a abertura dos túbulos dentinários e a exposição de fibras colágenas (Sterrett & Murphy, 1989; Wen et al., 1992; Lafferty et al., 1993), facilita o desenvolvimento de uma nova inserção, trabalhos *in vivo* têm sido realizados (Stahl & Froum, 1977; Stahl et al., 1983; Common & McFall Jr., 1983) para a verificação desta afirmação. Frente aos diferentes resultados, colaborando (Cole et al., 1980; Selvig et al., 1981; Wikesjö et al., 1988) ou não para uma nova inserção (Stahl & Froum, 1977; Stahl et al., 1983; Nyman et al., 1981; Gottlow et al., 1984), novos trabalhos se fazem necessários, para verificar se a preparação radicular * é um procedimento de real valor dentro de suas finalidades terapêuticas

*Preparação radicular: uso de instrumentos ou produtos químicos na raiz dentária para eliminação de irritantes, prevenir acúmulo de bactérias e ajudar no processo de cicatrização. *The American Academy of Periodontology*, 1992.

Conclusão

- As concentrações de tetraciclina de 125 e de 250 mg/ml, independentemente do modo e do tempo de aplicação, mostraram maior eficácia na remoção da “smear layer” radicular.
- A remoção da “smear layer” radicular não foi tempo-dependente.
- A aplicação da tetraciclina por fricção apresentou melhor remoção da “smear layer” do que a aplicação por contato.
- Juntando as variáveis analisadas, os tratamentos de 50 mg/ ml por 1 minuto, por fricção, e de 125 mg/ml, por 1 minuto, por fricção, apresentaram os melhores resultados quanto à remoção da “smear layer”. Os piores resultados foram apresentados pelos tratamentos de 125 mg/ml por 1 minuto, por contato; 250 mg/ml, por 1 minuto, por contato e de 500 mg/ml por 1 ou 3 minutos, por contato.

Referências bibliográficas*

- ADRIAENS, P. A. et al. Ultrastructural observations of bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. *J Periodontol.*, v.59, p. 493-503, 1988.
- ALEO, J. J., DE RENZIS, F. A., FARBER, P. A. In vitro attachment of human gingival fibroblasts to root surface. *J. Periodontol.*, v.46, p.639-45, 1975.
- ALEO, J.J. et al. The presence and biological activity of cementum-bound endotoxin. *J Periodontol.*, v.45, p. 672-5, 1974.
- ALGER, F. A. et al. The histologic evaluation of new attachment in periodontally diseased human roots treated with tetracycline-hydrochloride and fibronectin. *J. Periodontol.*, v. 61,p. 447-55, 1990.
- BABAY, N. Nondiseased dentinal root surface following citric acid or tetracycline hydrochloride conditioning: a scanning electron microscopic study on the effects of ultrasonic irrigation before and after root conditioning. *Quintessence Int.*, v. 28, p. 93-7, 1997.
- BABAY, N. Attachment of human gingival fibroblasts to periodontally involved root surface following scaling and/or etching procedures: a scanning electron microscopy study. *Braz. Dent. J.*, v. 12, n.1, p. 17-21, 2001.

- BAL, B., KAYA, E., BALOS, K. Effects of various root surface treatments on initial clot formation: a scanning electron microscope study. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.*, v. 32, p. 281-93, 1990.
- 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.*, v. 18, p. 171-9, 1998.
- BJORVATN, K. In vitro study by fluorescein microscopy and microradiography of tetracycline-tooth interaction. *Scand. J. Dent. Res.*, v. 91, p. 417-24, 1983.
- BLOMLÖF, J. Root cementum appearance in healthy monkeys and periodontitis-prone patients after different etching modalities. *J. Clin. Periodontol.*, v. 23, n.1, p. 12-8, 1996.
- BLOMLÖF, J., LINDSKOG, S. Periodontal tissue-vitality after different etching modalities. *J. Clin. Periodontol.*, v.22, p. 464-8, 1995a.
- BLOMLÖF, J., LINDSKOG, S. Root surface texture and early cell and tissue colonization after different etching modalities. *Eur. J. Oral. Sci.*, v.103, n.1, p.17-24, 1995b.
- BLOMLÖF, J. P. S., BLOMLÖF, L. B., LINDSKOG, S. F. Smear removal and collagen exposure after non-surgical root planning followed by etching with an EDTA gel preparation. *J. Periodontol.*, v. 67, p. 841-5, 1996.

- BLOMLÖF, J, BLOMLÖF, L., LINDSKOG, S. Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis-affected root surfaces. *J. Clin. Periodontol.*, v. 24, p. 534-7, 1997a.
- BLOMLÖF, J. P. S., BLOMLÖF, L. B., LINDSKOG, S. F. Smear layer formed by different root planing modalities and its removal by an Ethylenediaminetetraacetic acid gel preparation. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, v. 17, p. 243-9, 1997b.
- BLOMLÖF, J., BLOMLÖF, L., LINDSKOG, S. Ultrasonic subgingival root planning and EDTA etching in a one-step procedure. *Swed. Dent. J.*, v.21, p. 213-8, 1997c.
- BLOMLÖF, J. et al. Long-time etching at low pH jeopardizes periodontal healing. *J. Clin. Periodontol.*, v. 22, p. 459-63, 1995
- BOGLE, G. et al. Healing of horizontal circumferential periodontal defects following regenerative surgery in beagle dogs. *J. Clin. Periodontol.*, v. 12, p. 837-49, 1985.
- BRANNSTROM, M., JOHNSON, G. Effects of various conditioners and cleaning agents on prepared dentin surfaces: A scanning electron microscopic investigation. *J. Prosthet. Dent.*, v. 31, p. 422-30, 1974.
- CODELLI, G. R., FRY, H. R., DAVIS, J. W. Burnished versus nonburnished application of citric acid to human diseased root surfaces: the effect of time and method of application. *Quintessence Int.*, v.22, p.277-83, 1991.
- COLDIRON et al. A quantitative study of cementum removal with hand curettes. *J. Periodontol.*, v. 61, p. 293-9, 1990.

- COLE, R. T. et al. Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth. A histological study. *J. Periodontal Res.*, v. 15, n. 1, p. 1-9, 1980.
- COMMON, J., McFALL Jr, T. The effects of citric acid on attachment of laterally positioned flaps. *J Periodontol.*, v. 54, n. 1, p. 9-18, 1983.
- DELAZARI, F. M. C. et al. Scanning electron microscopy study of the effect of tetracycline HCL on smear layer removal and fibrin network formation. *Braz. Dent. J.*, v.10, p. 81-7, 1999.
- DUGGAR, B. M. Aureomycin: a product of the continuing search for new antibiotics. *Ann N. Y. Acad Sci.*, v.51, p. 177-81, 1948.
- DYER, B. L. et al. Guided tissue regeneration with dentin biomodification. *J. Periodontol.*, v.64, p. 1052-60, 1993.
- EICK, J. D. et al. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J. Dent. Res.*, v. 49, p. 1359-68, 1970.
- FARDAL, O., LOWENBERG, B.F. A quantitative analysis of the migration, attachment, and orientation of human fibroblasts to human dental root surfaces in vitro. *J. Periodontol.*, v. 61, p 529-35, 1990.
- FOGEL, H. M., PASHLEY, D. H. Effect of periodontal root planning on dentin permeability. *J. Clin. Periodontol.*, v. 20, p. 673-7, 1993.
- GABLER, W.L., CREAMER, H. R. Suppression of human neutrophil functions by tetracyclines. *J Periodontal Res.*, v.26, p 52-8, 1991.
- GARRETT, J. S., CRIGGER, M., EGELBERG, J. Effects of citric acid on diseased root surfaces. *J. Periodontal Res.*, v.13, p. 155-63, 1978.

- GAUSS-MULLER, et al. Role of attachment factors and attractants in fibroblast chemotaxis. *J. Lab. Clin. Med.*, v. 96, p. 1071-80, 1980.
- GENCO, R. J., GOLDMAN, H. M. , COHEN, W. D. *Contemporary periodontics* St. Louis: Mosby, 1990.
- GOLUB, L.M. et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. *J. Periodontal Res.*, v. 19, p. 651-5, 1984.
- GOMES, B.C., GOLUB, L.M., RAMAMURTHY, N.S. Tetracyclines inhibit parathyroid hormone-induced bone resorption in organ culture. *Experientia*, v. 40, p. 1273-5, 1984.
- GOTTLOW, J., NYMAN, S., KARRING, T. Healing following citric acid conditioning of roots implanted into bone and gingival connective tissue. *J. Periodontal Res.*, v. 19, p. 214-20, 1984.
- HANES, P. J., O'BRIEN N. J., GARNICK, J.J. A morphological comparison of radicular dentin following root planing and treatment with citric acid or tetracycline HCL. *J. Clin. Periodontol.*, v. 18, p. 660-8, 1991.
- HANES, P. J., POLSON, A.M, LADENHEIM, S. Cell and fiber attachment to demineralized dentin from normal root surfaces. *J. Periodontol.*, v. 56, p.752-65, 1985.
- HANES, P.J. et al. Initial wound healing attachment to demineralized dentin. *J. Periodontol.*, v. 59, p. 176-83, 1988.
- HATFIELD, C. G., BAUMHAMMERS, A. Cytotoxic effects of periodontally involved surfaces of human teeth. *Arch. Oral Biol.*, v. 16, p. 465-8, 1971.

- HÉRITIER, M. Effects of phosphoric acid on root dentin surface. A scanning and transmission electron microcopic study. *J. Periodontal Res.*, v. 19, p. 168-76, 1984.
- ISIK, A. G. et al. A comparative scanning electron microscopic study on the characteristics of demineralized dentin root surface using different tetracycline HCL concentrations and application times. *J. Periodontol.*, v.71, p. 219-25, 2000.
- ISIK, G., INCE, S., SAGLAM, F., ONAN, U. Comparative SEM study on the effect of different demineralization methods with tetracycline HCL on healty root surfaces. *J. Clin. Periodontol.*, v. 24, p. 589-94, 1997.
- JONES, S.J. et al. Tooth surfaces treated in situ with periodontal instruments. SEM studies. *Br. Dent. J.*, v.132, 57-68, 1972.
- JONES, W. A., O'LEARY, T.J. The effectiveness of in vivo root planning in removing bacterial endotoxin from the roots of periodontally involved teeth. *J. Periodontol.*, v. 49, p. 337-42, 1978.
- KERNS, D. G. et al. Dentinal tubule occlusion and root hypersensitivity. *J. Periodontol.*,v. 62, p. 421-8, 1991.
- LABAHN, R. et al. Root dentin morphology after different modes of citric acid and tetracycline hydrochloride conditioning. *J. Periodontol.*, v. 63, p. 303-9, 1992.

- LAFFERTY, T. A., GHER, M. E., GRAY, J. L. Comparative SEM study on the effect of acid etching with tetracycline HCL or citric acid on instrumented periodontally involved human root surfaces. *J. Periodontol.*, v. 64, p. 689-93, 1993.
- LEIDAL T. L., ERICKSEN, H. A scanning electron microscopic study of the effect of various cleansing agents on cavity walls *in vitro*. *Scand. J. Dent. Res.*, v.87, p.443-9, 1979.
- LÓPEZ, N. J. Connective tissue regeneration to periodontally diseased roots, planed and conditioned with citric acid and implanted into the oral mucosa. *J. Periodontol.*, v. 55, p. 381-90, 1984.
- MADISON, J. G., HOKETT, S. D. The effects of different tetracyclines on the dentin root surface of instrumented, periodontally involved human teeth: A comparative scanning electron microscope study. *J. Periodontol.*, v.68, p. 739- 45, 1997.
- MAGNUSSON, I. et al. Root resorption following periodontal flap procedures in monkeys. *J. Periodontal Res.*, v. 20, p. 79-85, 1985.
- NALBANDIAN, J., COTE, N. Direct histological comparison of periodontal wound healing in the beagle dog with and without citric acid conditioning. *J.Periodontal Res.* v.17, p. 552-62, 1982.
- NYMAN, S., LINDHE, J., KARRING, T. Healing following surgical treatment and root demineralization in monkeys with periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, v. 8, p. 249-58, 1981.

- O' LEARY, T. J., KAFRAWY, A. H. Total cementum removal: A realistic objective? *J. Periodontol.*, v. 54, p. 221-6, 1983.
- PASHLEY, D.H. Smear-layer: physiological considerations. *Oper. Dent.*, v.3, p. 13-29, 1984.
- PILATTI, G. L. *Estudo "in vitro" da capacidade de remoção da "smear layer" da superfície radicular com o uso do gel de EDTA. Influência da concentração, tempo e forma de aplicação.* Araraquara, 2001. 139p. Tese (Doutorado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- POLSON, A. M., HANES, P. J. Cell and fiber attachment to demineralized dentin. A comparison between normal and periodontitis-affected root surfaces. *J. Clin. Periodontol.*, v.14, p. 357-65, 1987.
- POLSON, A. M., PROYE, M. P. Effect of root surface alterations on periodontal healing. II. Citric acid treatment of the denuded root. *J. Clin. Periodontol.*, v. 9, p. 441-54, 1982.
- POLSON, A. M., PROYE, M. P. Fibrin linkage: a precursor for new attachment. *J. Periodontol.*, v. 54, p. 141-7, 1983.
- POLSON, A. M. et al. The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. *J. Periodontol.*, v. 55, p. 443-6, 1984.
- REGISTER, A. A. Bone and cementum induction by dentin, demineralized in situ. *J. Periodontol.*, v.44, p. 49-54, 1973.

- REGISTER, A. A., BURDICK, F. A. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. I. Optimum range. *J. Periodontol.*, v. 46, p. 646-55, 1975.
- REGISTER, A. A., BURDICK, F. A. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. II. Defect repair. *J. Periodontol.*, v. 47, p. 467-505, 1976.
- RUBEN, M. P., SHAPIRO, A. An analysis of root surface changes in periodontal disease – a review. *J. Periodontol.*, v.49 p.89-91, 1978.
- SAMPAIO, J.E.C. *Eficiência de detergentes e EDTA na remoção da “smear layer” de superfícies radiculares submetidas a Raspagem e Aplainamento. Análise através da Microscopia Eletrônica de Varredura*. Araraquara, 1999., 73p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- SAMPAIO, L M. *Remoção da “smear layer” após aplicação de tetraciclina na superfície radicular de dentes extraídos. Análise através de microscopia eletrônica de varredura*. Araraquara, 2001., 50p. Tese (Doutorado em Periodontia). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- SELVIG, K. A. Biological changes at the tooth saliva interface in periodontal disease. *J. Dent. Res.*, v.48, p. 846-55, 1969.
- SELVIG, K. A., HALS, E. Periodontally diseased cementum studied by correlated microradiography, electron probe analysis and electron microscopy. *J. Periodontal Res.*, v.12, p. 419-29, 1977.

- SELVIG, K. A., ZANDER, H. A. Chemical analysis and microradiography of cementum and dentin from periodontally diseased human teeth. *J. Periodontol.*, v. 33. p. 303-10, 1962.
- SELVIG, K. A. et al. Fine structure of new connective tissue attachment following acid treatment of experimental furcation pockets in dogs. *J. Periodontal Res.*, v.16, p.123-9, 1981.
- STAHL, S.S., FROUM, S. J. Human clinical and histological repair responses following the use of citric acid in periodontal therapy. *J. Periodontol.*, v. 48, p. 261-6, 1977.
- STAHL, S. S., FROUM, S. J., KUSHNER, L. Healing responses of human intraosseous lesions following the use of debridement, grafting and citric acid root treatment. II. Clinical and histological observations: one year postsurgery. *J. Periodontol.*, v. 54, p. 325-38, 1983.
- STERRETT, J. D., BAIN, C. Citric acid burnishing of dentinal root surfaces. A preliminary scanning electron microscopy report. *J. Can. Dent. Assoc.*, v. 53, p.395-97, 1987.
- STERRETT, J. D., MURPHY, H. J. Citric acid burnishing of dentinal root surfaces. A scanning electron microscopy report. *J. Clin. Periodontol*, v.16, p. 98-104, 1989.
- STERRETT, J. D., BANKEY, T, MURPHY, H.J. Dentin demineralization. The effects of citric acid concentration and application time. *J. Clin. Periodontol*, v. 20, p. 366-70, 1993.

STERRETT, J. D., DHILLON, M., MURPHY, H. J. Citric acid demineralization of cementum and dentin: the effect of application pressure. *J. Clin. Periodontol.*, v.22, p. 434-41, 1995.

STERRETT, J. D., HAWKINS, C. H., THOMAS, J. Citric acid burnishing of native radicular dentine: a scanning electron microscopic report. *Quintessence Int.*, v. 20, p. 423-6, 1989.

STERRETT, J.D. et al. Tetracycline demineralization of dentin: the effects of concentration and application time. *J. Clin. Periodontol.*, v. 24, p. 457-63, 1997.

TERRANOVA, V. P., MARTIN, G. R. Molecular factors determining gingival tissue interaction with tooth structure. *J. Periodontal Res.*, v. 17, p. 530-3, 1982.

TERRANOVA, V. P. et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: Tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth. *J. Periodontal Res.*, v. 21, p. 330-7, 1986.

THE AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. *Glossary of periodontal terms*. 3 rd. ed. Chicago: The American Academy of Periodontology, 1992. p. 43.

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.*, v. 14, p. 461-70, 1994.

- TROMBELLI, L. et al. Effect of tetracycline HCL on periodontally-affected human root surfaces. *J. Periodontol.*, v. 66, p. 685-91, 1995.
- WEN, C. R. et al. In vitro effects of citric acid application techniques on dentin surfaces. *J. Periodontol.*, v. 63, p. 883-9, 1992.
- WIKESJÖ, U. M. E. et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J. Periodontal Res.*, v.21, p. 322-9, 1986.
- WIKESJÖ, U. M. E. et al. Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs following reconstructive surgery including root surface demineralization with tetracycline hydrochloride and topical fibronectin application. *J. Clin. Periodontol.*, v. 15, p. 73-80, 1988.
- WILLEY, R., STEINBERG, A. D. Scanning electron microscopic studies of root dentin surfaces treated with citric acid, elastase, hyaluronidase, pronase and collagenase. *J. Periodontol.*, v. 55, p. 592-6, 1984.
- WIRTHLIN, M. R. The current status of new attachment therapy. *J. Periodontol.*, v.52, p. 529-44, 1981.
- ZAMAN, K. U. et al. A study of attached and oriented human periodontal ligament cells to periodontally diseased cementum and dentin after demineralizing with neutral and low pH etching solution. *J. Periodontol.*, v. 71, p. 1094-9, 2000.

ANEXO 1

ANEXO 2**Grupo I(50mg/ml) C**

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
255214	7	7	7	7
255212	6	6	6	6
255208	7	7	7	7
255206	8	7	7	7
255200	7	7	7	7
SUBGRUPO B				
255202	7	7	7	7
255190	7	7	7	7
255186	7	7	7	7
255184	4	4	4	4
255180	7	7	7	7
Subgrupo C				
255239	2	2	2	2
255237	7	7	7	7
255231	7	7	7	7
255218	8	7	7	7
255130	7	7	7	7

Grupo I(50mg/ml) F

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
255210	2	2	2	2
255196	2	2	2	2
255192	5	5	5	5
255188	1	1	1	1
255182	1	1	1	1
SUBGRUPO B				
255216	8	8	8	8
255204	4	1	1	1
255198	4	4	4	4
255194	4	4	4	4
255178	4	4	4	4
Subgrupo C				
255241	8	8	8	8
255229	4	4	4	4
255225	4	4	4	4
255222	4	4	4	4
255220	5	5	5	5

Grupo II(125mg/ml) C

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
255233	7	7	7	7
255176	7	7	7	7
255156	6	6	6	6
255152	7	7	7	7
255144	6	6	6	6
SUBGRUPO B				
255235	7	7	7	7
255173	6	6	6	6
255160	7	7	7	7
255150	3	3	3	3
255132	7	7	7	7
Subgrupo C				
255168	7	7	7	7
255166	3	3	3	3
255154	6	7	7	7
255146	6	3	3	3
255136	5	5	5	5

Grupo II(125mg/ml) F

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
255174	2	2	2	2
255158	2	2	2	2
255142	1	1	1	1
255140	7	7	7	7
255139	1	1	1	1
SUBGRUPO B				
255227	4	4	4	4
255170	4	4	4	4
255164	4	4	4	4
255162	4	4	4	4
255148	5	5	5	5
Subgrupo C				
255126	5	5	5	5
255120	2	2	2	2
255116	7	7	7	7
255110	4	4	4	4
250515	4	4	4	4

Grupo III(250mg/ml) C

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
255128	7	7	7	7
250596	6	6	6	6
250592	7	7	7	7
250546	8	8	8	8
250544	8	7	7	7
SUBGRUPO B				
255114	3	3	3	3
255102	2	2	2	2
255100	8	8	8	8
250588	7	7	7	7
250578	2	2	2	2
Subgrupo C				
255112	8	8	8	8
255108	3	3	3	3
250586	7	7	7	7
250584	7	7	7	7
250576	8	7	7	7

Grupo III(250mg/ml) F

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
250598	4	4	4	4
250594	4	4	4	4
250582	4	4	4	4
250580	4	4	4	4
250503	5	4	5	5
SUBGRUPO B				
255134	4	4	4	4
255124	4	4	4	4
255122	4	4	4	4
255118	4	4	4	4
250590	4	4	4	4
Subgrupo C				
250574	4	1	1	1
250520	4	4	4	4
250509	4	4	5	4
250513	5	4	4	4
255106	4	4	4	4

Grupo IV(500mg/ml) C

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
255104	6	6	6	6
250554	6	6	6	6
250548	8	7	7	7
250542	7	7	7	7
250536	7	7	7	7
SUBGRUPO B				
250572	7	7	7	7
250568	3	3	3	3
250564	3	3	3	3
250562	7	7	7	7
250556	8	7	7	7
Subgrupo C				
250570	5	5	5	5
250566	5	7	7	7
250524	3	6	6	6
250522	7	7	7	7
250511	7	7	7	7

Grupo IV(500mg/ml) F

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
250560	5	5	5	5
250558	5	5	5	5
250552	4	4	4	4
250550	4	4	4	4
250540	5	5	5	5
SUBGRUPO B				
250538	4	4	4	4
250532	4	4	4	4
250530	4	4	4	4
250528	5	5	5	5
250526	5	5	5	5
Subgrupo C				
250534	4	4	4	4
250518	4	4	4	4
250507	5	5	5	5
250505	4	4	4	4
250501	5	5	5	5

Grupo V(SF) C

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
190103	8	8	8	8
180108	8	8	8	8
190118	8	8	8	8
190117	8	8	8	8
190111	8	8	8	8
SUBGRUPO B				
190101	8	8	8	8
190104	8	8	8	8
190110	8	8	8	8
190112	8	8	8	8
190120	8	8	8	8
Subgrupo C				
190119	8	8	8	8
190116	8	8	8	8
190115	8	8	8	8
190105	8	8	8	8
190106	8	8	8	8

Grupo V(SF) F

Foto	1ª LEITURA	2ª LEITURA	3ª LEITURA	NOTA FOTO
SUBGRUPO A				
140143	8	6	8	8
140158	8	8	8	8
140168	6	8	8	8
140157	8	8	8	8
140161	7	6	7	7
SUBGRUPO B				
140164	8	7	8	8
140172	8	7	8	8
140156	8	7	8	8
140148	8	6	6	6
140151	8	8	8	8
Subgrupo C				
140142	8	8	8	8
140159	8	7	8	8
140166	8	7	8	8
140173	6	6	6	6
140176	8	8	8	8

MATA, A. C. *Avaliação do cloridrato de tetraciclina, na remoção da “smear layer” radicular, em diferentes concentrações, modos de aplicação e tempos. Análise através da microscopia eletrônica de varredura..* Araraquara, 2002., 92 p. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, a capacidade do cloridrato de tetraciclina, na remoção da “smear layer” radicular formada após raspagem e aplainamento, em diferentes concentrações, tempos e modos de aplicação. Amostras foram obtidas das superfícies radiculares de dentes extraídos de humanos, sendo submetidos à instrumentação rotatória e raspagem e aplainamento radicular previamente a aplicação do agente condicionante. O cloridrato de tetraciclina foi aplicado por contato ou por fricção com bolinhas de algodão trocadas a cada 30 segundos, em diferentes concentrações: 50, 125, 250 e 500 mg/ml e em diferentes intervalos: 1, 2 e 3 minutos. O grupo controle consistiu de aplicação de soro fisiológico nos mesmos modos e tempos dos grupos testes. Concluímos que: -as concentrações de 125 e 250 mg/ml de tetraciclina foram as que apresentaram os melhores resultados na remoção da “smear layer”; - a aplicação por fricção mostrou ser mais eficiente na remoção da “smear layer”; - os resultados não foram tempo-dependentes. Quando verificou-se as variáveis conjugadas, a concentração de 50 mg/ml sob fricção por 1 minuto e a

concentração de 125 mg/ml sob fricção por 1 minuto foram as que apresentaram os melhores resultados.

Palavras-chave: raiz dentária, tetraciclina, “smear layer”.

MATA, A. C. *Assessment of tetracycline HCL in the removal of radicular smear layer, in different concentrations, intervals and modes of application. Analysis through scanning electronic microscopy*. Araraquara, 2002., 92 p.

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

ABSTRACT

The goal of this study is to assess the capacity of tetracycline HCl in removing — in vitro, in different concentrations, during different intervals and according to different modes of application—radicular smear layer resulting from scaling and planing root surfaces of human extracted teeth, which had been, previously, submitted to rotary instrumentation. Cotton pellets, soaked in a solution of tetracycline HCl, in concentrations of 50, 125, 250, or 500mg/ml, were either gently “placed” or “rubbed” on the prepared root surfaces for either one, two or three minutes. Pellets were changed every 30 seconds. The control group consisted of applying physiological serum during the same intervals and according to the same modes of application of those used for the testing-groups. As a conclusion, the strongly recommended concentrations of tetracycline for removing radicular smear layer were the ones of 125 and 250 mg/ml; that rubbing root surfaces proved to be the most efficient on the removal of radicular smear layer; and that the results reached in the present study were not time-dependent. When all assessment criteria were simultaneously applied, the best results derived not only from rubbing the prepared surfaces in a concentration of 50 mg/ml of

tetracycline HCl, during one minute, but also from rubbing them in a concentration of 125 mg/ml of tetracycline HCl, during one minute.

Keys words: tooth root, tetracycline, smear layer