

ASPECTOS ANTROPOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS E CLÍNICOS DO CÁLCULO DENTÁRIO: UMA REVISÃO DA LITERATURA

ANTHROPOLOGICAL, BIOCHEMICAL, MICROBIOLOGICAL AND CLINICAL ASPECTS OF DENTAL CALCULUS: A LITERATURE REVIEW

Oliveira GGC, Souza MC, Santos CS, Mattos-Guaraldi AL, Brito F, Hirata Júnior R

Guilherme Goulart Cabral de **Oliveira**: Aluno do curso de Graduação em Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Mônica Cristina de **Souza**: Bióloga, Pós-doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas/UERJ.

Cíntia Silva dos **Santos**: Médica Veterinária, Doutora em Ciências (Microbiologia) pela UFRJ, Professora Visitante da Disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ.

Ana Luíza de **Mattos-Guaraldi**: Bióloga, Doutora em Ciências (Microbiologia) pela UFRJ, Professora Associada da Disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ.

Fernanda **Brito**: Cirurgiã Dentista, Doutora em Periodontia pela UERJ, Professora Adjunta de Periodontia da Faculdade de Odontologia da UERJ.

Raphael **Hirata Júnior**: Cirurgião Dentista, Doutor em Ciências (Microbiologia) pela UFRJ, Professor Associado da Disciplina de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Ciências Médicas da UERJ.

Trabalho realizado no Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas (DMIP/FCM) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Categoria: Artigo Original de Revisão de Literatura

Correspondência: Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (DMIP) Faculdade de Ciências Médicas (FCM). Rua 28 de Setembro, 87 Fundos, 3º andar, laboratório 3, Vila Isabel; RJ; Brasil.

E-mail: rhiratajunior@gmail.com

Resumo: O cálculo dentário é uma estrutura calcificada a partir do biofilme dentário (placa bacteriana) que, após o seu estabelecimento, é de difícil remoção e constitui um mecanismo de patogenicidade importante em diversas situações patológicas da cavidade oral por estar sempre coberto por uma camada viável de biofilme não mineralizada. A presente revisão de literatura releva a importância dos biofilmes calcificados nos contextos de doença, seus aspectos clínicos e microbiológicos em tempos antigos e contemporâneos, e sobre as medidas terapêuticas e preventivas. Apesar de todo conhecimento gerado sobre as doenças da cavidade oral, ainda são limitadas as abordagens clínicas a respeito dos mecanismos de controle dos cálculos dentários.

Abstract: Dental calculus is a calcified structure from the dental biofilm (plaque), which, after its establishment, is difficult to remove and constitutes an important mechanism of pathogenicity in various pathological situations of the oral cavity because it is always covered by a viable layer of non-mineralized biofilm. The present literature highlights the importance of calcified biofilms in disease contexts, clinical and microbiological of dental calculus aspects in ancient and contemporary eras, and in therapeutic and preventive measures. Despite all the knowledge generated about the diseases of the oral cavity, the clinical approaches regarding the mechanisms of control of dental calculus still need investigations.

Palavras Chave: Cálculo dentário, Calcificação do biofilme, Higiene oral

Key words: Dental calculus, Biofilm calcification, Oral hygiene

Introdução:

O cálculo dentário é uma estrutura composta de biofilme bacteriano (placa bacteriana) calcificada, com crescimento concrecente e que tem a capacidade de se fixar nas superfícies não descamativas presentes na cavidade bucal, incluindo próteses e implantes.¹

Uma vez estabelecido, o cálculo dentário é de difícil remoção mecânica por métodos de higiene convencionais (escovação dentária e uso de fio dental). O cálculo dentário é capaz de se formar tanto em regiões supra como subgingivais. Além disso, não existem métodos químicos conhecidos capazes de remover o cálculo, havendo necessidade de remoção por métodos mecânicos em consultório odontológico.¹

O cálculo dentário possui propriedades típicas relacionadas ao desenvolvimento de doenças orais, tendo em vista a sua capacidade de reter mais biofilme e ser mantenedor de espécies periodontopatogênicas.¹ Com isso, tais estruturas são importantes agentes etiológicos secundários de doenças inflamatórias, acarretando inflamação e retração gengivais, halitose, e estão presentes com alta frequência nos processos periodontais, favorecendo o microambiente indutor da patogênese periodontal.

Estudos relacionados ao microbioma de amostras de cálculo dentário isoladas de primatas humanos e não humanos revelaram o estabelecimento de micro-organismos relacionados às doenças orais, ao longo do tempo, assim como os hábitos alimentares das sociedades.² Entretanto, ainda não são conhecidos de forma completa os métodos químicos, tampouco os micro-organismos relacionados ao processo de calcificação dos biofilmes.

O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão narrativa da literatura sobre os principais aspectos antropológicos, bioquímicos, microbiológicos e clínicos do cálculo dentário.

Aspectos antropológicos relacionados ao microbioma e metabolômica do cálculo dentário:

Muitas investigações têm sido realizadas acerca do microbioma do cálculo dentário. Os estudos dos aspectos microbiológicos relacionados ao cálculo dentário, através de tecnologias de sequenciamento de DNA, tem revelado a presença de DNA de diversos periodontopatógenos e outros micro-organismos presentes nas lesões periodontais, incluindo *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Filifactor alocis*, tais bactérias foram encontradas em análises do

microbioma do cálculo de populações apresentando perda de inserção óssea.² O material genético de micro-organismos de cálculos de períodos muito antigos ficou tão bem preservado que foi possível reconstruir e caracterizar o genoma de alguns patógenos periodontais da época incluindo *T. forsythia* e *P. gingivalis*.² *P. gingivalis* foi detectada em cálculos oriundos de amostras do período mesolítico na Europa (entre 5.550 e 3.500 A.C.) e em amostras da Argentina e do Chile obtidas de períodos de 2.500 A.C.²

O microbioma de lesões de cárie e de cálculo de indivíduos com cárie só permitiu a detecção de *Streptococcus mutans* a partir de espécimes da idade do bronze, período em que o homem começou a desenvolver atividades agrônômicas, revelando a associação deste micro-organismo com o consumo de sacarídeos de maior peso molecular, incluindo o amido.²

Quanto à análise metabolômica do cálculo, em um estudo publicado recentemente² foi determinada a presença de 285 metabólitos em cálculos dentários atuais e de 200 anos atrás, incluindo drogas e metabólitos da dieta. Destes, 185 metabólitos foram comuns entre as amostras atuais colhidas e de 200 anos atrás e 22 metabólitos foram detectados apenas nas amostras colhidas de indivíduos que viveram há dois séculos.² A não detecção de Stachydrina nos cálculos obtidos há 200 anos reflete as variações do comportamento alimentar, tendo em vista que este metabólito está presente em frutas cítricas e abundante em suco de laranja.²

Assim, os estudos do metaboloma do cálculo e do seu microbioma refletem não apenas o comportamento da dieta, como também os aspectos culturais aos quais as populações humanas são submetidas. Outro fator que também pode ser observado é o registro dos períodos em que os micro-organismos são capazes de iniciar, historicamente, o seu envolvimento nos processos disbióticos da cavidade oral.

Apesar disso, os estudos do metaboloma do cálculo não evidenciaram os lipídeos de alto peso molecular, especialmente os ácidos corynemicólicos (alguns com 40 a 60 átomos de carbono) presentes nas paredes celulares dos micro-organismos descritos como capazes de mediar à calcificação do biofilme bacteriano.³ A investigação quanto à presença deste composto poderia ser importante nos processos relacionados à etiologia da calcificação do biofilme dentário.

Aspectos bioquímicos, de formação e estrutura do cálculo dentário:

Assim como a formação do biofilme oral, a sua calcificação é oriunda de um processo disbiótico. O cálculo supragengival está associado a alteração do pH, aos sistemas tampão, à disponibilidade de cálcio, à alimentação e à diversidade microbiana.⁴ O cálculo dentário é precedido da formação da placa dentária e histologicamente é

associado aos micro-organismos, apresentando diferentes morfologias bacterianas em vários estados intra e extracelular de calcificação.⁵

O biofilme supra e sub gengival e os encontrados associados aos materiais dentários são compostos por um complexo microbiano que, através dos processos evolutivos se especializaram para habitar o ambiente oral.⁶ A formação ou integração do cálculo está associada a composição bacteriana da placa e a interação dele com o ambiente.⁴

Segundo JIN & YIP (2002)⁷, a composição da parede celular é um aspecto chave para o potencial de calcificação bacteriana. A deposição inicial de apatita em bactérias calcificadoras está associada à parede celular da bactéria ou a componentes ácidos associados a ela. Quando o micro-organismo apresenta em sua superfície um número maior de grupamentos carregados negativamente (fosfolípidios ácidos), principalmente fosfatidilserina e fosfatidilinositol, esses grupamentos conferem a esta estrutura uma capacidade maior para atrair íons cálcio.⁷

Em relação ao sistema tampão, a ureia é utilizada na resposta do pH da placa, a amônia (um produto da ureólise) contribui para a aumento do pH da placa, sendo um fator essencial para a formação do cálculo. Por ser um produto do metabolismo de substâncias contendo nitrogênio, a ureia pode ser secretada naturalmente pela saliva em uma concentração entre 5 e 10mmol/L, mas pode se apresentar elevada (em torno de 30mmol/L) em pacientes com doenças renais. Em um pH neutro, a ureia é hidrolisada por ureases em NH_4^+ e bicarbonato. Em pH ácido o equilíbrio ocorre pela reação com o bicarbonato, já em pH alcalino há a co-existencia com o NH_3 e o NH_4^+ .⁷

O cálculo dentário é composto de minerais e componentes orgânicos e inorgânicos. As estruturas de cálculo sub e supragengival contêm 37 e 58% de conteúdo mineral, respectivamente⁸, contendo 54,9% de proteínas e 10,2% de lipídeos fosfatidil-inositol e fosfatidil-serina. Ambos são duas importantes classes de fosfolípidios ácidos encontrados no cálculo, apesar de serem lipídeos de baixa concentração na parede celular e membranas bacterianas.⁹ Entretanto, o cálculo dentário possui fosfolípidios ácidos em concentrações muito mais altas do que na secreção salivar da glândula parótida.¹⁰ A concentração de fosfolípidios na saliva dos indivíduos que são grandes formadores de cálculo é significativamente maior do que nos indivíduos que formam pouco cálculo dentário¹⁰, sugerindo a sua importância na formação/calcificação dessa estrutura. Na superfície do cálculo, especialmente nos cálculos supragengivais, ocorre uma camada dispersa de micro-organismos filamentosos e bastonetes Gram-positivos. Os micro-organismos filamentosos apresentam uma estrutura perpendicular e em contato com as estruturas calcificadas do cálculo.

Dentre os cristais de cálcio observados na estrutura calcificada da matriz inorgânica, tem sido detectado: fosfato octacálcico $[Ca_8 (PO_4)_4 (HPO_4)_2 \cdot 5H_2O]$, hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6 (OH)_2]$, β fosfato tricálcico ou whitlockite, formando a parte inorgânica dos cálculos sub e supra gengivais e a bruxita $[CaHPO_4 \cdot 2H_2O]$: dicalcium phosphate dihydrate] que está presente apenas na fase precoce do cálculo supragengival.^{7,11}

Aspectos microbiológicos do cálculo dentário:

A microbiota periodontal é particularmente heterogênea, com mais de 400 espécies descritas, algumas bactérias encontradas em biofilme sub e supra gengivais podem estar correlacionadas a formação do cálculo.⁷ Segundo Mira et al⁶ estudos demonstraram que a microbiota supragengival tem como principais espécies o *Actinomyces*, *Streptococcus* e *Veillonella*, que representam aproximadamente 40% das bactérias cultiváveis, porém representam apenas 10% dos organismos encontrados em doenças subgengivais. Consequentemente, membros do gênero *Bacteroides* e *Fusobacterium* representam 20% da microbiota subgengival, mas apenas 5% da microbiota supragengival.⁶

Diversos estudos foram realizados verificando a capacidade de calcificação de *Corynebacterium matruchotii*. Este micro-organismo foi muito investigado no passado principalmente por ter sido apontado durante muito tempo como agente etiológico para o estabelecimento do cálculo dental em pacientes apresentando cálculo nas superfícies dentárias.^{5, 12, 13} Os estudos iniciais concluíram que as frações fosfolipídicas de *Bacterionema (Corynebacterium) matruchotii* teriam a capacidade de servir como estrutura indutora da formação de apatita no interior dos biofilmes.¹⁴

MOORER et al (1993)⁵ demonstraram comparativamente a capacidade de mineralização de bactérias acidogênicas (*Streptococcus*), e bactérias consideradas calcificadoras (*C. matruchotii*), como resultado vemos que as bactérias acidogênicas reduziram o pH dos meios de cultura em que foram cultivadas ao contrario de *C. matruchotii* que mantém o pH dos meios de cultura constantes ou levemente alcalinos e a corinebacteria apresentou uma melhor resposta quanto a capacidade de atrair o íon cálcio, contudo o estudo propôs que microrganismos considerados potencialmente não calcificadores podem expressar essa característica quando cultivadas em meios que os induzam a expressar tal capacidade.⁵

Estudos recentes analisando o microbioma da cavidade bucal e de faces oclusais de molares em pacientes adolescentes apresentando ou não cáries em tais superfícies, apresentaram uma grande diversidade de micro-organismos associados às lesões ativas de manchas brancas. Em tais superfícies *C. matruchotii*, foi um dos micro-organismos

encontrados em maior frequência do que nos biofilmes de sítios saudáveis. Em tais situações, o micro-organismo foi indicado, devido a sua presença em maior frequência, aos sítios que apresentaram manchas brancas ativas, relevando o seu papel nos biofilmes associados a tais lesões.¹⁵ Tais aspectos relacionados ao microbioma das lesões de cárie de esmalte/manchas brancas demonstram que *C. matruchotii* nem sempre está associado com a alcalinização do biofilme relacionado ao desenvolvimento de cálculo, e que é possível que ele possa participar, desde que fornecidas as condições de calcificação, de ambas as situações.

Aspectos clínicos, terapêuticos e preventivos:

A remoção não cirúrgica da placa e do cálculo é considerada a fase inicial do tratamento de pacientes com gengivite e periodontite. O procedimento consiste de motivação do paciente e instrução de higiene oral assim como a remoção mecânica de placa supra e subgengival.² O tratamento convencional das doenças periodontais induzidas por placa é o debridamento mecânico do biofilme de toda a boca, que pode ser realizado em quadrantes ou sextantes dependendo do número de visitas ao dentista e do grau de severidade. Estudos mostraram que bactérias periopatogênicas podem ser transmitidas intraoralmente e colonizar outros sítios como na língua, tonsilas e outras mucosas. Sendo assim, um sítio previamente tratado pode ser recolonizado após todo o tratamento ter sido concluído.¹⁶

O debridamento mecânico do cálculo com instrumentos manuais ou utilização de instrumentos ultrassônicos¹⁷⁻²⁰ constitui a principal abordagem aplicada na maioria dos consultórios, além da associação com fluídos abrasivos baseados em carbureto de silicone ou hidroxiapatita^{20,21}. Em adição, os sistemas que utilizam *Lasers* também vêm sendo utilizados com maior frequência em odontologia, visando a remoção de cálculo.¹⁹ Muita atenção é dada à terapia com a remoção do cálculo, entretanto ainda são pouco conhecidos mecanismos que previnam de fato a formação e mineralização do biofilme, especialmente aqueles localizados nas superfícies subgengivais.

Devido à formação de o cálculo dentário ser precedida pelo acúmulo da placa e estar relacionada à presença constante de uma camada viável de biofilme não mineralizada, mecanismos capazes de diminuir a formação da placa auxiliariam na diminuição da formação do cálculo dentário e, conseqüentemente, seus efeitos nocivos. A escovação é o mecanismo mais eficiente para este controle, contudo a presença de compostos terapêuticos associados a dentifrícios é proposta como uma forma de auxílio a remoção da placa.⁷

Desde 1970, a maior estratégia para a prevenção da formação do cálculo foi focada na inibição da formação de cristais, prevenindo assim a mineralização da placa.

Agentes capazes de sequestrar os sais de cálcio e formar complexos estáveis e solúveis vêm sendo propostos como agentes preventivos para a formação do cálculo dental, contudo, tais agentes podem causar danos ao esmalte dentário.²² Antimicrobianos também foram propostos com finalidade preventiva à formação do cálculo, visto que as bactérias são importantes para o processo de calcificação do biofilme, mas o uso prolongado de tais compostos pode provocar o desenvolvimento resistência a antimicrobianos.⁷

O pirofosfato é um agente anticálculo muito estudado já que inibe a formação de cristais de fosfato de cálcio quando utilizado em dentifrícios. O pirofosfato presente em dentifrícios é oriundo dos sais pirofosfato de sódio e/ou de potássio. Quando utilizado em dentifrícios nas concentrações de 3.3% a 5% ele mostra-se efetivo na inibição da formação do cálculo. O composto já foi usado em concentrações inferiores, como de 1% a 3 %, porém seus efeitos foram reduzidos. Estudos demonstraram que a incorporação do pirofosfato a dentifrícios fluoretados foi eficiente na redução da formação do cálculo.^{7, 22} Um dos principais problemas com pirofosfato em dentifrícios é a sua hidrólise e inativação na cavidade oral, pela saliva através de enzimas como, por exemplo, a fosfatase e a pirofosfatase.

Para solucionar a questão da fragilidade do pirofosfato, pesquisadores desenvolveram um copolímero de poli-vinil-metil éter e ácido maleico (Gantrez®), esse composto é capaz de reduzir a hidrólise através da inibição da fosfatase alcalina. A maioria dos estudos aponta a incorporação Gantrez® a 1,5% nos dentifrícios, sua presença junto ao pirofosfato e ao fluoreto é considerada uma ótima formulação, com efeito, anticálculo.^{7, 22}

Os sais de zinco (como o cloreto de zinco e o citrato de zinco) têm sido incorporados em compostos de higiene oral como agentes antiplacas e anticálculo, devido a seus efeitos na inibição da formação e crescimento de cristais de fosfato de cálcio. Esses compostos não alteram a atividade dos fluoretos, logo dentifrícios contendo sais de zinco geralmente incluem fluoretos em sua composição.²² Ainda associado ao uso do flúor, estudos com fluoreto estânico (SnF_2) mostraram a capacidade de reduzir a formação do cálculo dentário quando incorporado a dentifrícios tanto em experimentos *in vitro* como *in vivo*.²³ Entretanto, pouco se sabe sobre as formulações e a estabilidade do SnF_2 em preparações de dentifrícios, devido à labilidade deste agente químico nas constituições de produtos diversos.

O triclosan é um antibacteriano de amplo espectro utilizado para infecções de pele, agindo principalmente sobre a membrana bacteriana. Em sua concentração bacteriostática, ele impede a bactéria de obter aminoácidos essenciais para seu desenvolvimento, enquanto que, em sua concentração bactericida destrói a integridade da membrana citoplasmática e causa extravasamento do conteúdo celular.⁷ O uso do

triclosan com 5% de pirofosfato poderia ser uma poderosa combinação, visto que um agente reduziria a cristalização e o outro reduziria os microrganismos que contribuem para a formação do cálculo.²²

Conclusão:

O cálculo dentário está relacionado a diversos aspectos da patogênese de doenças da cavidade oral. O cálculo é o agente etiológico secundário das doenças periodontais pelo fato de favorecer o acúmulo de biofilme e amplificar o efeito do mesmo. Os estudos direcionados ao microbioma e metaboloma, têm fornecido informações importantes sobre os processos de evolução das populações humanas e sobre o estabelecimento dos micro-organismos associados aos mecanismos disbióticos da cavidade oral. Os fatores etiológicos relacionados à sua formação a partir do biofilme dentário, não são completamente conhecidos, tampouco os fatores microbianos e bioquímicos associados ao processo de calcificação de sua estrutura. Assim, estudos mais aprofundados buscando os mecanismos capazes de inibir a sua formação são importantes estratégias preventivas às doenças da cavidade bucal.

Referências:

1. Akcalı A, Lang NP. Dental calculus: the calcified biofilm and its role in disease development. *Periodontol* 2000. 2018 Feb; 76(1): 109-115.
2. Warinner C. Dental calculus and the Evolution of the Human Oral Microbiome. *J Calif Dent Assoc*. 2016; 44(7): 411-20.
3. Velsko IM, Overmyer KA, Speller C, Klaus L, Collins MJ, Loe L, Frantz LAF, Sankaranarayanan K, Lewis CM Jr, Martinez JBR, Chaves E, Coon JJ, Larson G, Warinner C. The dental calculus metabolome in modern and historic samples. *Metabolomics*. 2017; 13(11): 134.
4. Demir T, Baris O, Zor E. Investigation of in vitro Mineral Forming Bacterial Isolates from Subgingival Calculus. *Arch Clin Exp Surg*. 2014;3(3): 153-160.
5. Moorer WR, Ten Cate JM, Buijs JF. Calcification of a cariogenic *Streptococcus* and of *Corynebacterium* (*Bacterionema*) *matruchotii*. *J Dent Res*. 1993 Jun; 72(6): 1021-6.
6. Mira A, Simon-Soro A, Curtis MA. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries. *J Clin Periodontol*. 2017; 44(18): 23-28.
7. Jin Y, Yip HK. Supragingival Calculus: Formation and Control. *Crit Ver Oral Biol Med*. 2002; 13(5): 426-441.

8. Friskopp J, Isacson G. A quantitative microradiographic study of mineral content of supragingival and subgingival dental calculus. *Scand J Dent Res.* 1984 Feb; 92(1): 25-32.
9. Goldfine H. Comparative aspects of bacterial lipids. *Adv Microb Physiol.* 1972; 8: 1-58.
10. Slomiany A, Slomiany BL, Mandel ID. Lipid composition of human parotid saliva from light and heavy dental calculus-formes. *Arch Oral Biol.* 1981; 26(2): 151-2.
11. Rowles SL. Biophysical studies on dental calculus in relation to periodontal disease. *Dent Pract Dent Rec.* 1964; 15: 2-7.
12. Takazoe I, Itoyama T. Analytical electron microscopy of *Bacterionema matruchotii* calcification. *J Dent Res.* 1980; 59(6): 1090-4.
13. Tsuzukibashi O, Uchibori S, Shinozaki-Kuwahara N, Kobayashi T, Takada K, Hirasawa M. A selective medium for the isolation of *Corynebacterium* species in oral cavities. *J Microbiol Methods.* 2014 Sep; 104: 67-71.
14. Vogel JJ, Ennever J. The role of a lipoprotein in the intracellular hydroapatite formation on *Bacterionema matruchotii*. *Clin Orthop Relat Res.* 1971; 78: 218-22.
15. Ribeiro AA, Azcarate-Peril MA, Cadenas MB, Butz N, Paster BJ, Chen T, Bair E, Arnold RR. The oral bacterial microbiome of occlusal surfaces in children and its association with diet and caries. *PloS One.* 2017 Jul; 12(7): e0180621.
16. Darby I. Non-surgical management of periodontal disease. *Aust Dent J.* 2009; 54(1): 86-95.
17. Yousefimanesh H, Robati M, Kadkhodazadeh M, Molla R. A comparison of magnetostrictive and piezoelectric ultrasonic scaling devices: an in vitro study. *J Periodontal Implant Sci.* 2012 Dec; 42(6): 243-7.
18. Braun A, Krause F, Nolden R, Frentzen M. Efficiency of the Vector™ System compared to conventional methods for periodontal debridement (abstract). *Parodontologie.* 2002; 13: 281-282.
19. Arora S, Lamba AK, Faraz F, Tandon S, Ahad A. Evaluation of the Effects of Er,Cr:YSGG Laser, Ultrasonic Scaler and Curette on Root Surface Profile Using Surface Analyser and Scanning Electron Microscope: An In Vitro Study. *J Lasers Med Sci.* 2016; 7: 243-249.
20. Mittal A, Nichani AS, Venugopal R, Rajani V. The effect of various ultrasonic and hand instruments on the root surfaces of human single rooted teeth: A Planimetric and Profilometric study. *J Indian Soc Periodontol.* 2014; 18(6):710-7.
21. Chien HC, Ye DQ. Microscopic view of scaling influence on the root, using different power and time settings. *Quintessence Int.* 2016 ;47(7): 559-568.

22. Adams D. Calculus-inhibition Agent: A Review of Recent Clinical Trials. *Adv Dent Res.* 1995 Dec; 9(4): 410-418.
23. He T, Anastasia MK, Zsiska M, Farmer T, Schneiderman E, Milleman JL. In Vitro and In Vivo Evaluations of the Anticalculus Effect of a Novel Stabilized Stannous Fluoride Dentifrice. *J Clin Dent.* 2017 Dec; 28(4): 21-26.