



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA INTEGRADA

CARINA FALEIROS DEMITO

**EFEITO DA NANO-HIDROXIAPATITA ASSOCIADA AO FLUORETO NA
PREVENÇÃO DA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE ADJACENTE AOS
BRAQUETES ORTODÔNTICOS: “ ESTUDO *IN SITU*”.**

MARINGÁ
2013

CARINA FALEIROS DEMITO

**EFEITO DA NANO-HIDROXIAPATITA ASSOCIADA AO FLUORETO NA
PREVENÇÃO DA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE ADJACENTE AOS
BRAQUETES ORTODÔNTICOS: “ ESTUDO *IN SITU* “.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Odontologia Integrada, da Universidade Estadual de Maringá para obtenção do título de Mestre.

ORIENTADOR: PROF. Dr. ADILSON
LUIZ RAMOS

MARINGÁ
2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

DemitoSobrenome, Carina FaleirosNome
e Título / Nome do autor. -- Maringá, 2011.
99 f. : il. col., figs., tabs., mapas

Orientador: Prof. Dr. nome do orientador.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro..., Departamento..., Programa de Pós-
Graduação em..., 2011

1. Assunto. 2. Assunto. I. Sobrenome, nome, orient. II.
Universidade Estadual de Maringá... III. Título.

CDD 21.ed.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Carina Faleiros Demito

EFEITO DA NANO-HIDROXIAPATITA ASSOCIADA AO FLUORETO NA PREVENÇÃO DA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE ADJACENTE AOS BRAQUETES ORTODÔNTICOS:“ ESTUDO *IN SITU* “.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Odontologia Integrada, da Universidade Estadual de Maringá para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

PROF.^a DR^a. DANIELA RIOS

INSTITUIÇÃO: _____ ASSINATURA: _____

PROF.^a DR^a. MARINA CALVO FRACASSO

INSTITUIÇÃO: _____ ASSINATURA: _____

PROF. DR. ADILSON LUIZ RAMOS

INSTITUIÇÃO: _____ ASSINATURA: _____

CARINA FALEIROS DEMITO

12 de maio de 1979

Nascimento- Maringá-PR

Filiação

Bernardino Demito
Geni Faleiros de P. Demito

1999-2003

Graduação em Odontologia
UEM- Maringá-PR

2003-2005

Pós-graduação em
Ortodontia e Ortopedia Facial
AMO- DENTAL PRESS-
Maringá- PR

2005-2008

Especialização em Ortodontia
UEM- Maringá-PR

2011-2013

Mestrado em Odontologia
Integrada- UEM- Maringá-PR

***"Pesquisar é ver o que outros viram,
e pensar o que nenhum
outro pensou."
(Albert Szent-Gyorgyi)***

AGRADECIMENTOS

À Deus, que sempre esteve ao meu lado, guiando os meus passos, fortalecendo-me nos momentos difíceis e dando-me sabedoria e paciência para que eu pudesse chegar ao fim dessa caminhada.

Aos meus pais maravilhosos Bernardino e Geni, pela educação, ensinamentos e amor incondicional. Minha formação pessoal e profissional eu devo eternamente à vocês que sempre me apoiaram e me ajudaram desde às mais fáceis, às mais difíceis decisões. Minha eterna gratidão.

À minha irmã Thalita que mesmo longe, sempre torceu para que eu realizasse esse sonho.

Ao meu noivo Wagner, pela compreensão e paciência na falta de tempo. O meu muito obrigada pelas tardes e noites que você ficou me fazendo companhia nos laboratórios.

Ao meu cunhado Sandro, pela oportunidade que me deu de exercer essa linda profissão de ensinar.

Ao meu orientador professor doutor Adilson Luiz Ramos, pela orientação e transmissão de conhecimentos. Nossa caminhada foi longa. Meu orientador na Graduação, Especialização e Mestrado. Muito obrigada pela oportunidade de aprender com você.

À querida professora doutora Marina Calvo Fracasso, pelas orientações durante o desenvolvimento da metodologia. Agradeço pelas suas palavras de incentivo que me fizeram acreditar que esse trabalho poderia dar certo, mesmo diante de tantas dificuldades. Muito obrigada.

À professora doutora Livia Maria Andaló Tenuta, pela amizade, pelas orientações, e em especial por ter permitido o meu acesso ao laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP) para realização dos testes de microdureza.

Aos técnicos e pós-graduandos do laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP), agradeço pelos ensinamentos transmitidos.

À professora doutora Daniela Rios por se disponibilizar a compor a banca da qualificação e desta dissertação. Obrigada pela colaboração e por dividir seu conhecimento, enriquecendo este trabalho.

Aos meus voluntários, graduandos do 3º ano do curso de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá. Muito obrigada pela colaboração.

Ao querido casal Dr. Cláudio Fritzen e Mônica Negri Fritzen pela amizade e apoio psicológico que me deram nos momentos de dificuldade.

À todos os professores e funcionários do Departamento de Odontologia da UEM pelo apoio e conhecimentos transmitidos.

Aos colegas de turma, pela amizade e companheirismo durante esses anos.

À todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para que este trabalho atingisse os objetivos propostos.

RESUMO

Objetivo: Este estudo *in situ* propôs a avaliar o efeito da nano-hidroxiapatita associada ao fluoreto na prevenção da desmineralização do esmalte adjacente aos braquetes ortodônticos. **Materiais e Métodos:** 120 blocos de esmalte bovino (5x5x2mm) devidamente polidos, foram montados em dispositivos palatinos, contendo 3 espécimes para cada lado, em duas fileiras distintas. Braquetes ortodônticos foram colados no centro de cada bloco de esmalte, fixados com fio de niti 0,016" e ligaduras elásticas. O período experimental foi realizado em 2 etapas de 14 dias cada. Durante os períodos do experimento foi gotejada sacarose a 20% 8 vezes ao dia sobre os blocos de esmalte para a formação de biofilme. Na primeira etapa (grupos controle com e sem desorganização da placa), após 7 dias, em metade dos blocos foi realizada a desorganização da placa bacteriana por meio de um *microbrush*. Na segunda etapa do experimento (grupo nano-P), novos blocos foram posicionados no dispositivo e foi aplicado o produto Desensibilize® Nano-P (FGM) no início e após 7 dias. Decorridos os períodos experimentais, os espécimes foram seccionados no seu centro, sendo uma metade utilizada para análise por meio de microscopia de luz polarizada, enquanto que na outra metade analisou-se a microdureza longitudinal do esmalte, aplicados em 3 diferentes distâncias (abaixo do braquete, 30 μm e 130 μm a partir da margem do braquete), em 7 profundidades distintas (10, 20, 30, 50, 70, 90, e 110 μm). Os dados foram analisados estatisticamente (ANOVA, $p < 0,05$). **Resultados:** Considerando-se os grupos estudados, observou-se médias de desmineralização diferentes entre si, com menor média para o grupo nano P (20,23 μm) quando analisados por luz polarizada. Na análise de microdureza longitudinal, observou-se em relação a distância abaixo do braquete, que houve diferença estatística entre o grupo nano P e o controle sem desorganização da placa. Nas comparações à 30 μm (profundidades de 10 e 20 μm) e à 130 μm (até a profundidade 70 μm) o grupo nano P aumentou significativamente a microdureza em comparação aos demais. **Conclusão:** Portanto, o produto contendo nano-hidroxiapatita associada ao fluoreto apresentou efeito preventivo no esmalte adjacente aos braquetes ortodônticos, podendo ser uma alternativa no tratamento de pacientes alto risco à cárie.

ABSTRACT

Objective: This in situ study aimed to evaluate the effect of nano-hydroxyapatite associated with fluoride in the prevention of enamel demineralization adjacent to orthodontic brackets. **Materials and Methods:** 120 bovine enamel blocks (5x5x2mm) properly polished, were mounted on palatal devices containing three specimens for each side, in two distinct rows. Orthodontic brackets were bonded in the center of each block enamel, set with wire niti 0.016 "and elastic bandages. The experiment was conducted in two stages of 14 days each. During periods of the experiment was dropped 20% sucrose 8 times a day over the enamel blocks for biofilm formation. In the first stage (control groups with and without disruption of the plate), after 7 days, half of the blocks were performed plaque disruption by means of a microbrush. In the second stage of the experiment (group Nano-P), new blocks were positioned on the device and the product was applied Desensibilize ® Nano-P (FGM) at baseline and after 7 days. After the experimental period, the specimens were sectioned in its center, with one half used for analysis by polarized light microscopy, whereas the other half analyzed the microhardness of the enamel, applied in three different distances (bottom bracket, 30 µm and 130 µm from the edge of the bracket) in 7 different depths (10, 20, 30, 50, 70, 90 and 110 µm). Data was analyzed statistically (ANOVA, $p < 0.05$). **Results:** Considering the groups was observed averages demineralization different, with lower average for the Nano-P group (20.23 µm) when analyzed by polarized light. In the analysis of longitudinal microhardness was observed in relation to distance below the bracket, which was no statistical difference between the control group and Nano-P without disorganization of the plate. In comparison to 30 µm (depths of 10 and 20 µm) and the 130 µm (to a depth 70 µm) Nano-P group significantly increased hardness compared to the others. **Conclusion:** Therefore, products containing nano-hydroxyapatite associated with fluoride showed preventive effect on enamel adjacent to orthodontic brackets, could be an alternative treatment for patients at high risk for dental caries.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Template</i> utilizado para medir as profundidades da lesão	17
Figura 2- Fluxograma da metodologia	32
Figura 3-Imagem sob luz polarizada ilustrando a escala (300µm) para referência de mensurações das profundidades dos sitios de desmineralização.....	37
Figura 4 - Linhas de referências utilizadas para mensurações das profundidades das lesões.	37
Figura 5 – Gráfico com a distribuição dos espécimes avaliados que não apresentavam pontos de desmineralização.....	42
Figura 6 - Espécime sem desmineralização	46
Figura 7 - Espécime com desmineralização	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação entre os 3 grupos nas diferentes profundidades abaixo do braquete	39
Tabela 2 - Comparação entre os 3 grupos nas diferentes profundidades à 30 µm do braquete	39
Tabela 3 - Comparação entre os 3 grupos nas diferentes profundidades à 130 µm do braquete	40
Tabela 4 - Comparação entre as leituras nas diferentes distâncias no grupo Controle sem placa desorganizada.....	40
Tabela 5 - Comparação entre as leituras nas diferentes distâncias no grupo Controle com placa desorganizada.....	41
Tabela 6 - Comparação entre as leituras nas diferentes distâncias no grupo Nano-P	41
Tabela 7 - Comparação das médias de desmineralização entre os grupos.....	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DA LITERATURA	10
3 OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVOS GERAIS	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	33
4.2 MICRODUREZA SUPERFICIAL	34
4.3 APARELHOS PALATINOS	34
4.4 FASE CLÍNICA	35
4.5 FASE LABORATORIAL	36
5 RESULTADOS	38
5.1 MICRODUREZA LONGITUDINAL	38
5.2 MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA	41
6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
APÊNDICES	52
ANEXOS	56

1 INTRODUÇÃO

A desmineralização do esmalte acontece em quase 50% dos pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos fixos (GORELICK e GEIGER, 1982; OGAARD et al, 1988; VIVALDI-RODRIGUES et al, 2006; TUFEKCI et al, em 2011; HADLER-OLSEN et al, 2012). Este fato se deve especialmente à deficiência de higienização bucal do paciente, agravado pelo aumento de retentividade da placa bacteriana ao redor dos braquetes que pode chegar de duas a três vezes mais que um paciente sem aparelho fixo (KLUKOWSKA, 2011). As superfícies dos dentes que normalmente são menos suscetíveis à cárie, como por exemplo a superfície vestibular, tornam-se alvo para o desenvolvimento dessas lesões, especialmente a região gengival.

A prevenção da desmineralização durante o tratamento ortodôntico é um dos maiores desafios enfrentados pelos ortodontistas, apesar dos avanços na prevenção da cárie. Muitos estudos têm sido realizados com objetivo de tentar prevenir a formação das lesões de mancha branca e também em diagnosticá-las o mais precocemente possível (GORELICK et al, 1982; OGAARD et al, 1988; DEMITO et al, 2004). Dentre os métodos preventivos mais utilizados, a constante instrução de higiene, o uso de dentifrícios fluoretados, bochechos fluoretados caseiros, uso de vernizes fluoretados, uso da caseína associado ao fosfato de cálcio amorfo e da nano-hidroxiapatita tem se mostrado eficazes na prevenção (O'REILLY et al, 1987; DEMITO et al, 2004; VIVALDI-RODRIGUES et al, 2006; SILVA et al, 2010; TSCHOPPE et al, 2011).

A nano-hidroxiapatita é considerada um dos materiais mais biocompatíveis e bioativos, pois as nano-partículas apresentam elevada área superficial, o que pode facilitar a disponibilidade do material e a reorganização dos íons cálcio e fosfato na forma de hidroxiapatita. Além disso, a sua associação aos fluoretos pode potencializar seu efeito inibindo a desmineralização e estimulando a remineralização. Várias pesquisas têm mostrado resultados positivos da nano-hidroxiapatita na remineralização de lesões de cárie (TSCHOPPE et al, 2011; NAJIBFARD et al, em 2011 ; HUANG et al, 2011). Entretanto, não há na literatura científica, estudos com a nano-hidroxiapatita testando sua efetividade na prevenção da desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Em 1982, Gorelick e Geiger conduziram um estudo com objetivo de apresentar as características histopatológicas das lesões de mancha branca, e evidências clínicas que respondessem as seguintes questões: Qual seria a prevalência de manchas brancas após o tratamento ortodôntico? Existe algum dente com predisposição a estas lesões? Existe alguma diferença na distribuição destas lesões em pacientes com acessórios bandados ou colados? A duração do tratamento ortodôntico aumenta o risco a estas lesões? Segundo os autores, histopatologicamente, as lesões de mancha branca são causadas por um fenômeno óptico devido à perda mineral ocorrida abaixo da superfície do esmalte. Para compor o grupo controle do estudo, 50 crianças que não sofreram nenhum tipo de tratamento ortodôntico prévio, foram avaliadas quanto à presença de manchas brancas na superfície vestibular dos dentes. O grupo que recebeu tratamento com acessórios colados (grupo 1) foi composto por 121 pacientes, com menos de 18 anos de idade e que usaram aparelho por um tempo médio de 23,5 meses. O grupo com acessórios bandados (grupo 2) foi composto por 71 crianças, tendo o tratamento uma duração de aproximadamente 26 meses. O grupo 3 consistiu da avaliação clínica de 60 pacientes que utilizaram contenção fixa 3 x 3 por pelo menos 24 meses. Os dentes foram avaliados após a descolagem dos acessórios, quanto à presença de lesões de manchas brancas. Estas lesões foram classificadas de acordo com um escore criado pelos autores: 1- sem mancha branca; 2- formação de mancha branca leve; 3- formação de mancha branca severa e 4- mancha branca com cavitação. Os autores encontraram em 24% do grupo controle, a presença de alguma lesão de mancha branca. Dos pacientes que sofreram tratamento com braquetes colados, 49,6% apresentaram manchas brancas, e o grupo 2 apresentou incidência semelhante. Os dentes mais afetados pela lesão foram os incisivos laterais superiores, seguidos dos dentes póstero-inferiores. Não foram observadas manchas brancas com o uso de contenção tipo 3 x 3 e não houve diferenças entre o lado direito e esquerdo.

Holmen L. et al, em 1988 pesquisaram as reações histológicas e ultra-estruturais do esmalte quando este recebe uma remoção regular da dental placa. Os autores utilizaram um modelo de cárie *in vivo* em que 14 jovens voluntários

submetidos a tratamento ortodôntico participaram do estudo. Para criar áreas de retenção de placa, bandas ortodônticas com um espaço na vestibular foram colocadas em pares homólogos de pré-molares. Um dente em cada par serviu como controle e ficou com a banda cimentada por 5 semanas. A outra banda foi removida semanalmente e a superfície vestibular limpa, com profilaxia usando creme dental sem flúor, ou pela simples limpeza com uma bolinha de algodão. Os resultados indicaram que com 5 semanas houve desmineralização do esmalte visível no grupo que a banda não foi removida para profilaxia, em todos os 14 indivíduos. Entretanto, no grupo que recebeu profilaxia semanal para remoção da placa, teve o progresso da lesão impedido independente do procedimento de limpeza. Portanto, concluiu-se que a desorganização mecânica regular da placa dental foi capaz de suprimir a atividade bacteriana e, conseqüentemente, o desenvolvimento da cárie.

Em 2007, Geller D.P avaliou a microdureza superficial e longitudinal do esmalte de dentes com diferentes idades pós-eruptivas, submetidos a desafio cariogênico *in situ*. Foram utilizados 24 espécimes de esmalte humano de cada idade pós-eruptiva e eles foram aleatoriamente divididos entre doze voluntários que fizeram uso de um aparelho palatino. Durante o período experimental, as amostras foram submetidas ao acúmulo de biofilme dentário, sobre o qual foi gotejada uma solução de sacarose a 20% oito vezes ao dia, para provocar um alto desafio cariogênico. Após 7 dias, uma das metades (direita ou esquerda) do aparelho recebeu profilaxia com jato de bicarbonato de sódio para remoção do biofilme dentário, seguido de um novo acúmulo de biofilme até completar o período experimental de 14 dias. Foi realizado testes de microdureza superficial e longitudinal e os resultados demonstraram que os valores de microdureza superficial inicial tiveram uma tendência crescente com o passar dos anos, sendo encontrada diferença estatisticamente significativa apenas entre o esmalte incluso (antes da erupção) e o de mais de 10 anos de erupção. Depois do período *in situ*, os resultados obtidos mostraram que a porcentagem de perda de dureza superficial (%PDS) dos espécimes de esmalte com diferentes idades pós-eruptivas do grupo que recebeu e não profilaxia, revelaram uma tendência decrescente dos valores de %PDS com o passar dos anos e estes valores não apresentaram diferença estatisticamente significativa. No entanto, encontrou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo que recebeu a profilaxia e o que não recebeu, independentemente da idade pós-eruptiva. A diferença significativa entre o

grupo que recebeu a profilaxia e o que não recebeu ocorreu nas profundidades de 10 µm, 30 µm e 50 µm independentemente da idade pós-eruptiva. A partir da profundidade de 70µm, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com e sem profilaxia.

O'Reilly e Featherstone, em 1987, estudaram a quantidade e a extensão da desmineralização que ocorre ao redor dos braquetes ortodônticos após 1 mês na boca; e a capacidade de produtos fluoretados presentes no mercado, em inibir ou reverter a desmineralização relacionada ao tratamento ortodôntico. A amostra consistiu de 58 dentes, de 20 crianças, que seriam extraídos por indicação ortodôntica. Estes dentes foram divididos em 3 grupos experimentais e um grupo controle. Todos os pacientes foram instruídos em relação à higiene e receberam um creme dental fluoretado para utilizar durante o experimento. O grupo experimental 1 utilizou bochecho diário com solução de NaF a 0,05%, o grupo 2 recebeu aplicações tópicas de flúor a 1,23% semanalmente, e o grupo 3 recebeu os dois tipos de suplementos de flúor. Para conferir a cooperação dos pacientes, os pais foram instruídos a assinar diariamente, uma agenda comprovando que seus filhos seguiram corretamente as instruções. Fotos de antes da colagem e de antes da extração dos dentes foram obtidas para serem comparadas quanto à incidência de lesões de mancha branca. Os dentes removidos foram submetidos à teste de microdureza do esmalte. Os resultados mostraram a rapidez do processo de desmineralização que ocorre ao redor dos braquetes após 1 mês na cavidade bucal, mesmo com o uso de dentifrícios fluoretados. Observaram, que após 1 mês houve desmineralização considerável do esmalte adjacente aos braquetes, mesmo sem evidências clínicas. Os autores afirmaram que o uso de dentifrícios fluoretados em conjunto com bochechos diários com solução de NaF a 0,05% promove uma proteção completa para os pacientes ortodônticos, inibindo as lesões de mancha branca, ou promovendo a remineralização das mesmas.

No ano seguinte, em 1988, Geiger et al, planejaram um estudo clínico buscando respostas para as seguintes perguntas: 1- O programa de prevenção com flúor é eficiente na redução da incidência e da gravidade das manchas brancas após o tratamento ortodôntico? 2- Estes procedimentos reduzem a formação de lesões de mancha branca em todos os dentes? 3- Qual o grau de cooperação que podemos esperar dos pacientes? 4- De que forma o grau de cooperação com o programa preventivo afeta a formação de lesões de mancha branca? A amostra foi composta

por 101 pacientes que corresponderam a um total de 1567 dentes estudados. Os aparelhos foram colados com resina convencional e 3 minutos após à colagem, foi aplicado flúor fosfato acidulado por 5 minutos. Todos os pacientes foram instruídos a usar solução de NaF a 0,05% em casa, todos os dias antes de dormir. Os dentes foram analisados clinicamente no momento da remoção do aparelho seguindo o seguinte critério: 1- sem mancha branca; 2- pequena formação de mancha branca; 3- formação de mancha branca severa; 4- cavitação. Quanto à colaboração do paciente, a classificação foi: pobre, razoável e excelente. Os resultados mostraram que em 34 pacientes (33,8%) e em 117 dentes (7,5%) haviam lesões de mancha branca. Dentre estes 117 dentes, 101 apresentaram lesão grau 2, 15 apresentaram lesão grau 3 e apenas um dente apresentou lesão grau 4. Na maxila, os dentes mais afetados foram os incisivos laterais (17,5%) e os caninos (12,2%). Na mandíbula, os primeiros pré-molares (13,6%) e os primeiros molares (9,7%) foram os mais atingidos. Todos os casos de lesões moderadas ou graves foram encontrados nos pacientes que sofreram tratamento maior que 24 meses. Dos 101 pacientes, 52,5% não colaboraram com o tratamento, 20,8% colaboraram parcialmente e 26,7% colaboraram completamente com o programa preventivo. Nos 34 pacientes que apresentaram manchas brancas, 64,7% não colaboraram com o programa preventivo e somente 11% colaboraram. Os autores concluíram que a incidência de lesões de desmineralização de esmalte pode ser reduzida com o uso constante de solução de fluoreto de sódio a 0,05% durante todo o tratamento ortodôntico. Concluíram também que a incidência e a severidade das lesões estão relacionadas ao tempo em que os dentes permanecem com acessórios ortodônticos, e que a aplicação do flúor fosfato acidulado após a colagem não possui efeito preventivo na incidência de manchas brancas. Apesar do grande empenho na motivação dos pacientes e pais, a colaboração com o programa preventivo foi inexistente em mais de 50% dos pacientes.

Também em 1988, Ogaard et al, investigaram o desenvolvimento das lesões de esmalte durante o tratamento ortodôntico. Foram cimentadas bandas com espaço na vestibular para simular um ambiente cariogênico em 10 pré-molares indicados para exodontia por motivos ortodônticos, em pacientes com idade entre 11 e 13 anos. As bandas ficaram cimentadas durante 4 semanas e neste período os pacientes foram instruídos a não utilizar nenhum tipo de flúor. Após a extração dos pré-molares, estes foram cortados e analisados por meio de microrradiografias e

microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que as lesões de mancha branca podem se desenvolver em apenas 4 semanas, o que corresponde ao período entre as consultas ortodônticas. Um detalhe importante dentro dos resultados foi que as lesões que apareceram neste período de tempo, eram de superfície, e não subsuperficiais. Os autores ressaltaram que as lesões de superfície sofrem remineralização mais rapidamente e por completo, enquanto que as subsuperficiais apresentam uma remineralização lenta e parcial, mostrando assim a importância de programas de prevenção para tentar impedir a formação destas lesões.

Tufekci et al, em 2011, determinaram a prevalência de lesões de manchas brancas em pacientes ortodônticos, aos 6 e 12 meses de tratamento utilizando o método da análise visual. Foram incluídos no estudo, pacientes com 12 anos completos que estavam utilizando terapia ortodôntica fixa. Os pacientes foram divididos em 3 grupos. O grupo de 6 meses foi constituído de 37 indivíduos com idade média de $17,4 \pm 1,3$ anos. O grupo de 12 meses consistiu de 35 pacientes com idade média de $17,5 \pm 1,4$ anos. O grupo controle consistiu de 28 pacientes com idade média de $15,1 \pm 1,5$ anos, que foram examinados para a presença de lesões de mancha branca de esmalte. As medições foram realizadas em todos os pacientes pelo mesmo dentista, que não conhecia o quadro do paciente e nem o tempo de tratamento ortodôntico. Os voluntários foram avaliados somente após a remoção de fios e acessórios auxiliares, que foram removidos por uma assistente de ortodontia, minimizando assim a disponibilidade de informações que poderiam indicar a duração do tratamento. Antes das medidas serem tomadas, de segundo pré-molar direito a segundo pré-molar esquerdo, foi realizado isolamento com roletes de algodão e os dentes foram secos por ar durante 5s. Só as superfícies gengivais dos dentes foram examinadas para a presença de lesões de mancha branca, pois esta é a área mais propensa a desmineralização do esmalte durante o tratamento ortodôntico. A escala utilizada para o exame visual foi a seguinte: pontuação 0 = sem pontos brancos visíveis ou ruptura de superfície (sem desmineralização), pontuação 1 = mancha branca visível sem interrupção de superfície (desmineralização leve), pontuação 2 = lesão de mancha branca visível com uma superfície áspera, mas que não necessitam de restauração (desmineralização moderada), pontuação 3 = lesão de mancha branca visível exigindo restauração (desmineralização severa). Os três grupos (6 meses, 12 meses, e controle), foram avaliados quanto às diferenças na

prevalência de ter pelo menos uma lesão de mancha branca. Os autores encontraram que nos grupos de 6 e 12 meses, o percentual de indivíduos com pelo menos uma lesão visível era 38% e 46%, respectivamente. No grupo controle, apenas 11% da amostra apresentaram pelo menos uma lesão de mancha branca. Comparando os grupos de 6 meses ($P = 0,021$) e de 12 meses ($P = 0,005$), estes foram significativamente diferentes do grupo controle, mas não foram significativamente diferentes entre si ($P = 0,50$). No grupo de 6 meses, 23 pacientes não tiveram nenhuma lesão detectável (62%), 8 pacientes tinham entre 1-3 lesões e 6 pacientes tiveram maior ou igual a 4 lesões. No grupo de 12 meses foi semelhante, com 19 pacientes afetados (54%), sendo 12 pacientes com 1-3 lesões de manchas brancas, e 4 pacientes com maior ou igual a 4 lesões. Não houve diferenças estatisticamente significantes na distribuição de lesões de mancha branca entre os diferentes tipos de dentes (incisivos centrais superiores, incisivos laterais e caninos), indicando que todos os tipos de dentes foram igualmente submetidos à desmineralização. Assim, os autores concluíram que a maioria dos pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico tiveram pelo menos uma lesão de mancha branca em uma forma leve, mas alguns pacientes apresentaram desmineralização moderada ou grave. A prevalência de lesões de manchas brancas foi de 38% no grupo de 6 meses e 46% no grupo de 12 meses. Dado o elevado número de lesões encontradas em 6 meses, os autores afirmaram ser de grande importância a avaliação do estado de higiene bucal dos pacientes durante os meses iniciais do tratamento ortodôntico e, se necessário, implementar imediatamente medidas preventivas para evitar a desmineralização.

Recentemente, em 2012, Hadler-Olsen et al, testaram o efeito de um regime profilático na redução da incidência de lesões de mancha de esmalte. Pacientes encaminhados à clínica para tratamento ortodôntico foram incluídos no estudo com base nos seguintes critérios: 1- pacientes agendados para tratamento ortodôntico com aparelhos fixos em ambos os arcos; 2- menores de 16 anos de idade no início do tratamento. A amostra foi composta por 80 indivíduos, sendo 40 com aparelho ortodôntico fixo e 40 sem aparelho (controle). Antes dos aparelhos serem colados, todos os pacientes do grupo ortodôntico receberam instruções completa de higiene oral: 1- Todos os pacientes receberam um pacote de higiene oral, incluindo uma escova ortodôntica, escova interdental, comprimidos evidenciadores de placa, creme dental fluoretado e solução para bochecho; 2- Uma instrução de higiene oral

completa foi dada, e todos pacientes foram orientados a escovar os dentes três vezes por dia; 3- O tratamento não foi iniciado antes do índice de placa estar inferior a 10 %; 4- Os pacientes foram instruídos a evitar refrigerantes e sucos ácidos durante o tratamento e para restringir o consumo de doces de até o máximo de uma vez por semana. O grupo controle não recebeu qualquer profilaxia especial. Radiografias interproximais foram tomadas no grupo ortodôntico antes de quaisquer aparelhos e após 3 meses do início do estudo. A avaliação da placa foi feita usando comprimidos de evidenciação e lavagem para retirar o excesso do agente. As superfícies de todos os dentes foram então examinadas em relação à placa corada. Todos os indivíduos do grupo ortodôntico foram examinados antes e após o tratamento ortodôntico para a presença de cáries. Os indivíduos do grupo controle foram examinados nos mesmos intervalos de tempo do seu correspondente. Os dentes foram polidos com pasta profilática, bem enxaguados com água e secos ao ar. As lesões de mancha branca foram avaliadas de acordo com o índice de Gorelick et al. (1982). O grupo controle foi avaliado para os mesmos critérios do grupo ortodôntico. Os autores encontraram um aumento médio no índice de lesões de mancha branca de 1,9 e 0,4 no grupo ortodôntico e grupo controle, respectivamente. Esta diferença foi estatisticamente significativa ($P = 0,001$). As lesões de mancha branca recentemente desenvolvidas em ambos os grupos foram todas classificadas como grau 2 (formação leve de mancha branca). Os resultados mostraram que as pessoas tratadas ortodonticamente tem riscos significativamente maior de desenvolver lesões de mancha branca durante o tratamento ortodôntico que pessoas não tratadas. Os autores ainda ressaltaram que a implementação de um regime de higiene oral que dependa dos pacientes ortodônticos parece ser difícil.

Em 2004, Demito et al, em busca de um regime preventivo que não dependesse da colaboração do paciente, avaliaram *in vitro* a eficácia do verniz fluoretado Duraflor, na prevenção da desmineralização do esmalte ao redor dos braquetes ortodônticos. Para o estudo foram utilizados 40 incisivos bovinos que foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos iguais. Em cada dente foi colado braquete ortodôntico na superfície vestibular com resina composta Concise (3M-Glendora Califórnia). Dois grupos foram então compostos: grupo 1 (n=20), que não recebeu tratamento adicional antes de serem colocados numa solução cariogênica artificial; e grupo 2 (n=20), que recebeu aplicação do verniz fluoretado Duraflor

(Pharmascience, Montreal, Quebec-Canadá). Após 5 minutos de secagem do verniz (aplicado apenas no grupo 2), todos os dentes foram estocados em béquers separados contendo, em cada, 200ml de solução de saliva artificial em pH neutro. Ambos foram estocados dentro de uma estufa à temperatura de 37°C. Todos os dentes permaneceram em solução de saliva artificial por 12 horas antes da exposição inicial à solução cariogênica ou escovação mecânica. Após essas 12 horas, iniciou-se a ciclagem em meio cariogênico. Duas vezes ao dia, com intervalo de 6 horas, os dentes eram imersos por uma hora em béquers separados contendo 200ml de solução cariogênica em cada, também colocada na estufa à temperatura de 37°C. Todos os dentes eram retirados da solução, após 1 hora, e escovados por 5 segundos em cada face com escova de dentes sem dentifrício, para simulação da remoção mecânica do uso do verniz e controle de placa. Os dentes foram ciclados entre saliva artificial e solução de cárie artificial, por 35 dias, sendo que no 15º dia do experimento o verniz foi reaplicado no grupo experimental. No 35º dia, todos os dentes foram secos completamente, os braquetes foram removidos e secções longitudinais gengivo-oclusais de aproximadamente 400µm foram feitas. Os cortes foram reduzidos à aproximadamente 200µm, e em seguida colocados em lâminas histológicas para observação sob microscopia de luz polarizada. Empregou-se o programa para captura e análise de imagens Image Pro-Plus (V. 4. 5. 1 Da Media Cybernetics). As profundidades de cada lesão foram tomadas em µm, utilizando o mesmo programa, sendo que dentro de uma área de 500µm foram tomadas 3 profundidades (L1;L2;L3) utilizando um template colado na tela do computador (figura 1).

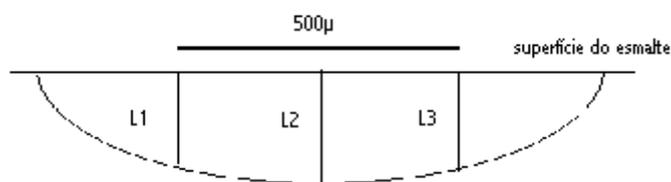


Figura 1-*Template* utilizado para medir as profundidades da lesão.

O grupo teste exibiu aproximadamente 40% menos desmineralização do que o grupo controle, sendo o verniz fluoretado uma boa alternativa para prevenção da desmineralização ao redor dos braquetes ortodônticos.

Em 2009, Gameiro et al, realizaram um estudo piloto *in situ* para avaliar a desmineralização do esmalte com duas formas diferentes de ligaduras de fio ortodôntico. Blocos de esmalte com braquetes ortodônticos colados foram colocados em aparelhos removíveis palatinos. Os fios em um lado do aparelho foram ligados com anéis elastoméricos e os do outro lado com fios de aço. Para o estudo, foram selecionados 4 voluntários (2 do gênero feminino e 2 do gênero masculino) com idade média de 27 anos. Os aparelhos foram confeccionados com cavidades medindo 15 × 5 × 4 mm, em que três blocos de esmalte bovino medindo 5 x 5 x 2 mm foram colocados em cada lado. Os blocos foram montados de tal forma que as superfícies dos dentes foram embutidas 1mm abaixo da superfície do aparelho para permitir a acumulação biofilme. Braquetes foram colados ao centro dos blocos de esmalte e fio de aço de 0,016 polegadas foi inserido nos slots em cada lado; no lado direito de cada aparelho foram ligados com anéis elastoméricos e os do lado esquerdo com ligaduras de aço, com um modelo de boca dividida. Os voluntários foram instruídos a retirar os aparelhos e gotejar uma solução de sacarose a 20% em cada bloco de esmalte oito vezes por dia. O total de biofilme formado sobre os blocos de esmalte, sob a ligaduras e em todo o suporte, foi coletado, pesado, e avaliado microbiologicamente. Os blocos de esmalte foram retirados dos aparelhos e a desmineralização do esmalte ao redor dos braquetes foi avaliada por microdureza longitudinal. As variáveis, peso do biofilme, bactérias totais, total de estreptococos, estreptococos do grupo mutans, lactobacilos e as contagens no biofilme formado, não diferiram significativamente ($P > 0,05$). O percentual de volume mineral (% vol) das áreas de controle (abaixo da base dos braquetes) não diferiram estatisticamente entre os blocos amarrados com anel elastomérico ou com amarrilho de aço em qualquer profundidade ($P = 0,16$). A desmineralização observada a uma distância de 10 μ m da superfície do esmalte até a borda da base do braquete (posição 0) foi maior do que a observada na área de controle, tanto para os blocos de esmalte ligados com anéis elastoméricos como àqueles ligados com fios de aço ($P < 0,05$). As diferenças entre as duas ligaduras não foram estatisticamente significativas. Em função da realização de testes estatísticos (GLMPOWER- poder de 80%), os autores relataram que 10 voluntários teriam sido suficientes para que os resultados fossem significantes. Assim, afirmam que este modelo *in situ*, é adequado para

investigação de desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos, bem como para avaliar medidas terapêuticas de prevenção da desmineralização do esmalte.

Em 2010, Silva et al, num estudo *in situ*, avaliaram o potencial remineralizante de selantes de fóssulas e fissuras contendo fosfato de cálcio amorfo (ACP) e/ou flúor, em lesões de cárie induzidas artificialmente em superfícies lisas de esmalte. Dez voluntários usaram dispositivos acrílicos palatinos por 5 dias de estudo duplo-cego. Foram compostos cinco grupos: (I) bloco de esmalte desmineralizado + Fluroshield (selante com flúor), (II) bloco de esmalte desmineralizado + Aegis (selante com ACP), (III) bloco de esmalte desmineralizado + selante experimental com flúor (FSE), (IV) bloco de esmalte desmineralizado+ selante experimental com flúor / ACP (ACP-F) e (V) bloco de esmalte desmineralizado (controle). Após o período experimental, o percentual de recuperação de microdureza superficial (% SMHR) e a microdureza final foram avaliados, assim como a profundidade das lesões. Os selantes contendo ACP e/ou flúor apresentaram maior capacidade remineralizante que o grupo controle, entretanto a associação entre ACP e fluoreto não mostrou maior eficácia na remineralização quando comparado ao Aegis. Assim, os autores concluíram que os selantes de fóssulas e fissuras contendo ACP foram capazes de promover a remineralização das lesões de cárie induzidas artificialmente em superfícies lisas de esmalte.

Também em 2010, Walker et al, desenvolveram 2 estudos duplo-cego, cruzados, randomizados, *in situ*, para avaliar a capacidade da caseína + fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) adicionado à doces de açúcar (produtos de confeitaria), em evitar a progressão das lesões de subsuperfície de esmalte. Dez participantes (5 homens e 5 mulheres) com idades entre 23-47 anos foram recrutados para o estudo 1, e 14 participantes (8 homens e 6 mulheres) com idade entre 21-47 anos para o estudo 2. Aparelhos palatinos removíveis de acrílico foram produzidos para cada estudo. Os aparelhos foram confeccionados com cavidades bilaterais (15 mm de comprimento, 7 mm de largura, 3 mm de profundidade) cortada na base do acrílico e destinada a alojar os blocos de esmalte. Estes foram retidos com cera para escultura ficando 1 mm abaixo da superfície para permitir formação e retenção de placa bacteriana. Lesões subsuperficiais de esmalte foram criadas. Para os 2 estudos *in situ*, confecções de doces foram preparadas. Para o estudo 1, os 4 produtos testados foram: (1) controle de açúcar, (2) açúcar + 0,5% de CPP-ACP, (3) açúcar + 1,0% de CPP-ACP e (4) controle sem açúcar. Para o estudo 2, os quatro produtos

testados foram: (1) controle de açúcar, (2) isento de açúcar + 0,5% de CPP-ACP, (3) isento de açúcar + 1,0% CPP-ACP e (4) controle sem açúcar. Para cada estudo, as sequências de tratamento foram geradas pela Estatística. Participantes usavam os aparelhos, exceto durante as refeições, realizavam procedimentos de higiene oral, e consumiam uma das confecções 6 vezes por dia, permitindo que se dissolvessem na boca (média de 10 minutos), durante 10 dias consecutivos (tratamento). Após cada período de tratamento, os participantes descansaram por uma semana (período de washout), depois passaram para outra confecção. Isto foi repetido até que todos os 4 produtos de confeitaria para cada estudo tivessem sido consumidos por cada participante. Após cada tratamento, os meio blocos de esmalte foram emparelhados com seu respectivo controle (outra metade do bloco), e foram submetidos à microrradiografia. O perfil de conteúdo mineral / profundidade da lesão desmineralizada de cada tratamento e controle foi comparado. O grupo controle, tanto no estudo com consumo de açúcar como no estudo sem açúcar, durante o período de experimental, resultou em progressão das lesões de esmalte subsuperficiais, mostrado por uma significativa diminuição do teor mineral total. Em contraste com as confecções de açúcar do controle, os produtos de confeitaria com açúcar que contêm CPP-ACP não resultaram na progressão das lesões subsuperficiais de esmalte em qualquer um dos 2 estudos. O consumo de produtos com açúcar + 0,5% de CPP-ACP e açúcar + 1,0% CPP-ACP, não resultou num aumento significativo na profundidade da lesão, produzindo um aumento significativo no total de conteúdo mineral e um aumento significativo no conteúdo mineral da camada de superfície e corpo da lesão. Consumo do açúcar + 0,5% de CPP-ACP e açúcar + 1,0% CPP-ACP exibiu uma clara remineralização do esmalte nas lesões de subsuperfície. O aumento do teor mineral total produzido pela confecção de açúcar + 1,0% confecção CPP-ACP foi significativamente maior do que a produzida pela confecção sem açúcar em ambos os estudos. Em conclusão, este estudo *in situ* mostrou que o consumo de confecções de açúcar contendo CPP-ACP, significativamente, remineralizou (regrediu) lesões de subsuperfície de esmalte. Os resultados sugerem que a incorporação de CPP-ACP em confecções de açúcar pode reduzir sua cariogenicidade.

Ainda em 2010, Souza et al, avaliaram *in situ* o efeito de diferentes freqüências de flúor administradas por dentifrícios e enxaguatórios bucais, objetivando avaliar se a adição do uso diário de enxaguatório bucal com flúor ao de

creme dental com flúor é equivalente a aumentar a frequência de aplicação de dentifrícios fluoretados, sobre os efeitos da desmineralização do esmalte. Para a realização do estudo, 12 voluntários com idade média de 23,6 (\pm 2,8) anos, utilizaram dispositivos palatinos contendo 2 blocos de esmalte bovino (3 x 3 x 2 mm) que foram preparados a partir de incisivos. Foram realizadas 3 fases de 14 dias cada, sendo que houve um intervalo de 7 dias entre as fases. Os voluntários foram divididos em três grupos aleatoriamente. Os tratamentos de cada fase foram: 1- T I - dentifrícios fluoretados duas vezes ao dia; 2- T II - creme dental com flúor duas vezes ao dia seguido de bochecho com solução de fluoreto de sódio uma vez ao dia; 3- T III - creme dental com flúor três vezes ao dia. Durante 7 dias antes e após os períodos, os voluntários escovaram os dentes com creme dental sem flúor para eliminar possíveis efeitos residuais. Os produtos utilizados foram dentifrício com flúor (1100 ppm F, à base de sílica), dentifrício não fluoretado (à base de sílica), e enxaguatório bucal com flúor (225 ppmF). Os blocos de esmalte eram expostos a uma solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia. No final de cada fase experimental, os blocos de esmalte foram removidos dos aparelhos e foram avaliados com respeito à dureza e conteúdo de flúor. A microdureza superficial foi medida antes dos tratamentos e após, foi realizada a microdureza longitudinal em uma metade do bloco e na outra metade, foi realizada a análise do conteúdo de flúor presente. Quanto à dureza do esmalte, os autores encontraram que os tratamentos não foram capazes de eliminar completamente a desmineralização. A dureza inicial foi semelhante para todos os grupos. O grupo T III apresentou uma menor porcentagem de mudança de dureza em relação ao grupo T I ($p < 0,05$). A porcentagem de mudança de dureza dos grupos T II e T III foram semelhantes. Todos os tratamentos apresentaram uma área similar de perda mineral de esmalte. O esmalte dos blocos expostos a tratamentos apresentaram um significativo aumento do teor de flúor quando comparado aos blocos não tratados ($p < 0,001$), mas não houve diferenças significativas entre os diferentes tratamentos. Os autores concluíram que o uso diário de bochecho com flúor combinado com dentifrício fluoretado tem efeitos similares na prevenção da desmineralização do esmalte quando se aumenta a frequência de uso do creme dental com flúor.

Shen et al, em 2011 realizaram um estudo randomizado, duplo-cego, cruzado, *in situ*, com objetivo de mostrar a eficácia dos produtos com fosfato de cálcio com e sem fluoreto, e compará-los com os produtos convencionais de

flúor (um dentífrico com 1000 ppm de F, um produto de 5000 ppm de F, e um produto placebo) na remineralização das lesões de subsuperfície do esmalte. Para o estudo, foram preparadas superfícies planas das faces vestibular e lingual de terceiros molares humanos extraídos que foram polidas e então serradas a partir do dente como um bloco medindo cerca de 8 x 4 mm, utilizando uma lâmina de diamante. Lesões de subsuperfície desmineralizadas foram criadas no esmalte imergindo cada bloco em solução de desmineralização (pH 4,8), durante 4 dias a 37, 8^oC. Após a desmineralização, cada bloco de esmalte foi serrado ao meio em dois blocos de 4 x 4 mm. Metade de cada par de blocos foi mantido como o controle da desmineralização e a outra metade do bloco foi inserida em um aparelho intra-oral, com a lesão de esmalte de subsuperfície exposta, mas recuada 1 mm abaixo da superfície do aparelho para criar biofilme. Cinco participantes saudáveis (3 homens e 2 mulheres), com idade média de 32,11 anos foram recrutados para o estudo. Seis produtos para remineralizar lesões de subsuperfície do esmalte foram testados:

1. Creme dental Mousse Tooth (TM) contendo 10% de CPP-ACP (GC Corporation)
2. Creme dental Mousse Tooth Plus (TMP) contendo 10% de CPP-ACP + 900 ppm de F (GC Corporation)
3. Creme dental com 1000 ppm F (Colgate)
4. Neutrafluor 5000 contendo 5000 ppm de F (Colgate)
5. Creme dental Clinpro contendo 950 ppm de F
6. Creme dental placebo

Os 5 voluntários usavam os aparelhos intra-orais contendo quatro meio-blocos de esmalte com lesões de subsuperfície. Um produto para a suspensão em água (1 g de produto, mais 4 ml de água destilada deionizada durante 5 min) foi preparada em um tubo de plástico codificados antes do tratamento todos os dias. Cada participante enxaguava o aparelho inserindo o mesmo em 5 ml da suspensão por 60 s. Esta imersão foi realizada 4 vezes por dia, durante 10 dias. Os participantes passaram em cada um dos seis tratamentos, após um intervalo de 1 semana entre os tratamentos. Após a conclusão de cada período de tratamento, os blocos de esmalte foram analisados por microrradiografias e os autores encontraram diferenças significativas no conteúdo mineral das lesões depois dos diferentes tratamentos, onde TMP produziu o mais alto nível de remineralização da subsuperfície do esmalte

e o produto do placebo, a menor. Não houve diferença significativa entre o produto com 1000 ppm F e o produto Clinpro na sua capacidade de remineralização do esmalte nas lesões de subsuperfície, no entanto todos os outros valores foram significativamente diferentes. A ordem de remineralização do menor para o maior foi: Placebo <1000 ppm F = Clinpro <5000 ppm F <TM <TMP. Os produtos TM e TMP, foram ambos superiores ao produto com 5000 ppm de F; e TMP foi superior a todos os outros produtos em sua capacidade para remineralizar as lesões de subsuperfície do esmalte, *in situ*. Dados microrradiográficos mostraram imagens de lesões de subsuperfície após o uso dos produtos, e foi constatado que os produtos com flúor (1000 ppm F e 5000 ppm de F) remineralizaram predominantemente a camada de superfície das lesões, enquanto TM e TMP remineralizaram todo o corpo das lesões.

Em 2012, Akin et al, compararam os efeitos da pasta de fluoreto de sódio, caseína fosfato de cálcio-amorfo (CPP-ACP), e a técnica de microabrasão no tratamento de lesões de mancha branca. Foram selecionados para o estudo 80 pacientes que tinham feito tratamento ortodôntico com aparelho fixo, e que desenvolveram lesões de desmineralização no esmalte (46 do sexo feminino e 34 do sexo masculino- totalizando 966 dentes afetados). A população do estudo foi dividida em quatro grupos de 20 pacientes cada. Grupo I (controle)- os participantes eram orientados para apenas escovar os dentes. Grupo II (fluoreto)- os participantes eram instruídos a usarem 20 ml de fluoreto de sódio neutro 0,025% para bochecho (Colgate Plax, Colgate-Palmolive), durante 30 segundos, duas vezes ao dia (após café da manhã e antes de deitar) por 6 meses. Grupo III (CPP-ACP)- os participantes foram instruídos a aplicar o creme tópico de CPP-ACP (GC Mousse) às superfícies dos dentes por meio do dedo limpo duas vezes por dia, após escovar os dentes. Utilizaram por 6 meses também. Grupo IV (microabrasão)- os participantes foram submetidos ao tratamento pela técnica de microabrasão; 18% de ácido clorídrico foi misturado com pó de pedra-pomes fina para se obter uma suspensão. Os dentes afetados foram limpos lentamente com pedra-pomes e água utilizando uma taça de borracha num contra- ângulo por 30s e, em seguida, lavado com um jato de água-ar. O ciclo do processo de microabrasão/ lavagem foi repetido três a quatro vezes em cada dente afetado. Os pacientes foram submetidos a quatro ou cinco sessões da terapia com microabrasão, com um intervalo de 2 semanas, na medida do necessário. Todos os pré-molares, caninos e incisivos de cada participante foram examinados para a presença de lesões de manchas brancas.

Todas as lesões determinadas foram registradas por meio de fotografias após a remoção dos braquetes, e foram comparadas com as fotografias pré-tratamento para assegurar que nenhuma das lesões já existiam antes do tratamento ortodôntico. Os autores encontraram que a área das lesões de manchas brancas diminuiu significativamente em todos os grupos após 6 meses de tratamento. Inter grupo houve diferenças significativas nas taxas de sucesso do tratamento. A maior taxa de sucesso (melhora da mancha branca) foi observada para o grupo IV (97%). A taxa de sucesso do grupo III (58%) foi significativamente mais elevada do que a dos grupos II (48%) e I (45%). Concluíram então que, o tamanho de uma lesão de mancha branca pode diminuir ao longo do tempo; CPP-ACP e agentes com flúor aumentam a remineralização do esmalte desmineralizado e neste estudo, a microabrasão mostrou ser o melhor método para o tratamento das lesões de manchas brancas pós-tratamento ortodôntico.

Najibfard et al, em 2011 avaliaram, *in situ*, a eficácia da nano-hidroxiapatita (nHAP) presente em dentifrícios, sobre a remineralização de lesões cariosas e na inibição da desmineralização do esmalte. Para tanto foram obtidos 4 blocos de esmalte que foram confeccionados a partir de um molar, sendo três blocos obtidos de esmalte desmineralizado e um bloco de esmalte hígido. Foram utilizados para o estudo 30 molares. Trinta voluntários adultos fizeram o uso de aparelhos palatinos. Os blocos de esmalte desmineralizados (A,B,C) foram expostos, respectivamente, para dentifrícios com nHAP a 5%, nHAP a 10% e 1100 ppm de fluoreto; os blocos de esmalte hígidos (D) foram expostos ao dentifrício contendo nHAP a 10%. Os voluntários utilizaram o aparelho contendo os blocos de esmalte por 28 dias em cada fase, totalizando 4 fases, ou seja, uma fase para cada tipo de tratamento. A porcentagem de perda mineral e profundidade da lesão foram obtidas antes e depois da fase experimental por meio de microrradiografias. A comparação entre os grupos mostrou redução da porcentagem de perda de volume mineral e profundidade da lesão em A, B e C, e não houve diferença significativa entre estes grupos em relação ao ganho mineral em porcentagem. Nos blocos do grupo D (esmalte hígido + nHAP a 10%) não foi observado desmineralização do esmalte. Os autores concluíram que os dentifrícios com nHAP são comparáveis aos dentifrícios fluoretados, inibindo o desenvolvimento decárie, sugerindo que um dentifrício com nHAP pode ser uma alternativa eficaz a dentifrício com flúor.

Tschoppe et al, 2011 avaliaram *in vitro* efeitos do tratamento diário com diferentes dentifrícios contendo nano-hidroxiapatita (n-Hap), na remineralização de lesões subsuperficiais do esmalte e dentina de dentes bovinos. De 35 incisivos bovinos, 70 amostras de esmalte (6x 4x 4mm) foram preparadas a partir da superfície vestibular e as de dentina (n = 85) foram derivadas das regiões cervicais (4x 3x 4mm). Um quarto de cada superfície da amostra foi coberto com verniz ácido-resistente para servir como controle saudável e após, foram imersas em solução desmineralizante. Posteriormente, a metade de cada superfície desmineralizada foi coberta com verniz novamente (para controle do patamar de desmineralização). As amostras foram aleatoriamente divididas em cinco grupos (esmalte n = 14; dentina n = 17), e foram armazenadas separadamente em solução remineralizante por duas e cinco semanas a 37°C. Os procedimentos de escovação foram realizados em cada subgrupo duas vezes ao dia por 5 s. Após cada tratamento de escovação, as amostras foram lavadas com água deionizada (por 10 s). Os produtos testados foram dentifrícios comercialmente disponíveis com ZnCO₃/n-HAp ou n-HAp (todos sem qualquer fluoreto) como ingrediente ativo. Um dentifrício contendo amina fluoretada serviu como grupo de referência. Após o tratamento, foram realizados cortes finos (100 µm) e feitas microrradiografias transversais para avaliar a densidade mineral e a profundidade das lesões. Diferenças de perda mineral antes e após o armazenamento/ tratamento foram avaliadas. Os autores encontraram que os diferentes dentifrícios com nano-hidroxiapatita revelaram capacidades semelhantes de remineralização em lesões de esmalte e dentina e estas foram superior ao dentifrício contendo fluoreto de amina. Portanto, os autores constataram que a nanohidroxiapatita em produtos dentários podem ajudar a promover a remineralização das lesões incipientes de esmalte e dentina.

Huang et al, em 2009 estudaram o efeito de diferentes concentrações de nanohidroxiapatita em lesões iniciais de esmalte sob condições de ciclagem de pH. As lesões iniciais de esmalte foram preparadas em esmalte bovino com um tampão ácido de NaF (controle positivo), água deionizada (controle negativo), e quatro concentrações diferentes de nanohidroxiapatita (1%, 5%, 10% e 15%) foram selecionadas como agentes de tratamento. A microdureza de superfície (SMH) foi realizada antes e depois da desmineralização e após 3, 6, 9 e 12 dias de aplicação, bem como a porcentagem de recuperação de dureza de superfície (% SMHR) foi calculada. As amostras foram, então, examinadas por um microscópio eletrônico de

varredura. O SMHR% nos grupos de tratamento com nanohidroxiapatita foi significativamente maior do que a do controle negativo quando a concentração de nano-HA foi inferior a 10%. Não houve diferenças significativas entre os grupos com 10% e 15% em diferentes períodos de tempo. Os autores concluíram que a nano hidroxiapatita foi capaz de remineralizar lesões iniciais de esmalte e que uma concentração de 10% da mesma pode ser considerada ótima para a remineralização do esmalte.

No ano seguinte (2010), Huang et al, investigaram os efeitos combinados da Galla chinesa e nanohidroxiapatita na remineralização de lesões iniciais de esmalte. Foram utilizados para o estudo, blocos de esmalte bovino com lesões iniciais produzidas *in vitro*. As lesões foram submetidas a um regime de ciclagem de pH por 12 dias. Cada ciclo diário incluiu 4 vezes de 3 minutos de aplicação com um dos 5 tratamentos: NaF (controle positivo), água deionizada (controle negativo), extrato aquoso bruto de Galla chinesa (GCE), nanohidroxiapatita (nano-HA) e com GCE + nano-HA. As amostras foram posteriormente avaliadas utilizando um aparelho de microdureza, microscopia de luz polarizada (PLM), difração de raios X (XRD) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). As medições de dureza de superfície e do valor de recuperação mineral obtida a partir da secção transversal de ensaio de microdureza (PDS), revelou que todos os grupos de tratamento tiveram um efeito significativo sobre a remineralização comparado ao grupo controle negativo. Investigação detalhada tanto do PDS e PLM indicaram que a nano-HA só ajuda na deposição mineral predominante na camada externa da lesão, com capacidade limitada para reduzir significativamente a profundidade da lesão. No grupo GCE + nano-HA, a deposição mineral ocorreu mais no corpo da lesão e a profundidade das lesões foram significativamente reduzidas. Assim, os autores concluíram que houve efeito sinérgico significativo da combinação GCE + nano-HA em promover a remineralização da lesão inicial do esmalte.

Em 2011, Huang et al em um novo estudo *in vitro*, pesquisaram o efeito da remineralização pela nanohidroxiapatita (nano-HA) em esmalte bovino desmineralizado sob condições cíclicas de pH, utilizando microdureza superficial e longitudinal (PDS), e microscopia de luz polarizada (PLM). As soluções de tratamento foram compostas por suspensões aquosas de 10% de nano-HA e 10% de micro-hidroxiapatita em diferentes valores de pH (4,0, 5,5 e 7,0); uma solução de teste equivalente (controle positivo) com mesma concentração de íon livre da nano-

HA, pH 7,0, foi preparada; um grupo de controle negativo foi também utilizado para servir como um controle comum. Blocos de esmalte bovino 4x4mm foram obtidos da superfície do esmalte e em seguida, estas foram polidas. Após o polimento, a microdureza de superfície inicial (SMH) do esmalte foi medida. Todas as superfícies dos blocos de esmalte, com exceção da superfície polida, foram protegidas com verniz ácido-resistente (esmalte de unha). Cada amostra (total de 70 amostras) foi imersa em 8 ml de solução de desmineralização, durante 72 h, a 37 °C. Metade de cada amostra foi então coberta com um verniz ácido-resistente. As seções foram divididas aleatoriamente (10 espécimes por grupo) em 7 grupos de acordo com as opções de tratamento. Estas foram então imersas em solução para ciclagem de pH. Após cada tratamento, os blocos foram lavados com água deionizada. O regime foi repetido durante 12 dias e mantido à temperatura de 37°C. A imersão na solução remineralizante foi feita a cada três dias, e nas soluções de tratamento foram feitas diariamente. Depois da ciclagem de pH, os valores de SMH de esmalte foram medidos com carga estática e ao mesmo tempo novamente (SMH2) e o percentual recuperação de dureza (%SMHR) foi calculado. Depois da SMH, todos os blocos de esmalte foram seccionados longitudinalmente e preparados para microdureza longitudinal (PDS) Duas faixas de indentações foram feitas a uma profundidade de 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 e 200 micrômetros a partir da superfície de esmalte na região central do bloco dental. Para a análise sob microscopia de luz polarizada, seções de 300 micrômetros de espessura foram cortadas ao lado da superfície transversal utilizada para medição da dureza. As seções foram lixadas até se obter aproximadamente 80 micrômetros de espessura. Amostras representativas foram montadas em lâminas de vidro de microscópio e em seguida, examinadas sob um microscópio de luz polarizada. A profundidade da lesão foi quantificada através de um sistema de análise de imagens (Image Pro-Plus versão 5.1; Media Cybernetics, Inc., Silver Spring, Maryland, EUA). Os grupos com nano-HA mostraram % SMHR significativamente maior em comparação com o grupo com micro-HA. Os resultados mostraram que o menor efeito de remineralização foi encontrado no controle positivo (íon livre de nano-HA) e no grupo de controle negativo, além disso, não houve diferença estatisticamente significativa entre esses grupos. No entanto, o grupo de nano-HA exibiu um melhor efeito de remineralização em comparação com o grupo de controle positivo (íon livre de nano-HA), especialmente na camada externa da lesão. Quando foi analisada a microscopia

pela luz polarizada, observou-se uma típica desmineralização subsuperficial em todos os grupos. Depois da remineralização, mais mineral foi depositado no corpo da lesão e a profundidade das lesões foi claramente reduzida nos grupos de nano-HA com pH 4,0 e pH 5,5. No entanto, só a espessura da camada de superfície do esmalte aumentaram ligeiramente no esmalte tratado com a nano-HA a um pH de 7,0, enquanto que pouca mudança ocorreu no esmalte tratado com micro-HA, controle positivo e controle negativo. Dentro dos limites deste estudo, os autores concluíram que a nano-HA tem bom potencial para remineralizar esmalte de lesões de cáries iniciais em condições dinâmicas de ciclagem de pH e tem efeitos melhores do que a remineralização com micro-HA em condições neutras. Além disso, a nano-HA promove remineralização preferencial na camada superficial da lesão do esmalte, mas não é viável sob condições neutras, enquanto que sob condições ácidas ela pode acelerar significativamente a taxa, a profundidade, e a extensão de remineralização de lesões incipientes.

Hanning M. E Hanning C., em 2012 realizaram uma revisão na literatura com o objetivo de destacar recentes desenvolvimentos nanotecnológicos para a remineralização de lesões incipientes de cárie, bem como estratégias biomiméticas para a síntese de esmalte com base na aplicação da nanotecnologia. A análise dos dados *in vitro* tem indicado que as nano-partículas de apatita podem ser eficazes em reverter a progressão da lesão na camada superficial do esmalte, mas não teria o mesmo efeito na parte mais profunda de lesões iniciais de cárie. Para controlar a desmineralização, os investigadores têm desenvolvido nanopartículas de fosfato de cálcio e fluoretos que liberam íons quando o pH diminui em condições *in vitro*. Extensivas investigações *in vitro* com hidroxiapatita têm sido realizadas para imitar a topologia hierárquica do esmalte natural e estratégias para a formação de estruturas altamente organizadas incluem agregação de nanocristais ou a montagem de nanopartículas de apatita. Apesar de todos estes experimentos promissores *in vitro*, a eficácia de tais estratégias para o controle de processos de desmineralização, bem como para a terapia da cárie ainda necessitam de validações por estudos clínicos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar, *in situ*, o efeito da nano-hidroxiapatita associada ao fluoreto na prevenção da desmineralização do esmalte adjacente aos braquetes ortodônticos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Comparar as áreas de esmalte que receberam aplicação da pasta Desensibilize Nano P (FGM, Joinvile-SC, Brasil) com as que não receberam.
- ✓ Comparar os grupos quanto à microdureza longitudinal dos blocos de esmalte após o tratamento com Desensibilize Nano P (FGM, Joinvile-SC, Brasil).
- ✓ Comparar os grupos quanto à profundidade das lesões nos blocos por meio de luz polarizada, após o tratamento com Desensibilize Nano P (FGM, Joinvile-SC, Brasil).
- ✓ Avaliar a influência da desorganização mecânica da placa dentária no efeito da pasta Desensibilize Nano-P).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto teve parecer favorável fornecido pelo Comitê de Ética de Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá (Anexo A) e todos os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A), conforme Resolução 196/96 do Ministério da saúde, Distrito Federal, 10/03/1996.

Delineamento experimental

O presente estudo *in situ* envolveu um desenho aleatório em blocos e foi realizado em um período de 28 dias (2 etapas de 14 dias), em que 10 voluntários fizeram uso de um dispositivo intrabucal palatino contendo 6 espécimes de esmalte bovino com braquetes ortodônticos colados, sendo 3 amostras inseridas de cada lado do aparelho. Durante todo o período experimental, os espécimes foram submetidos ao acúmulo de biofilme dental, por meio do gotejamento de sacarose a 20% 8 vezes ao dia, para provocar um alto desafio cariogênico.

Os grupos em estudo foram:

- ✓ Grupo 1: controle sem placa desorganizada- desafio cariogênico por 14 dias.
- ✓ Grupo 2: controle com placa desorganizada- desafio cariogênico por 14 dias com desorganização mecânica da placa no 7º dia.
- ✓ Grupo 3: nano-P- desafio cariogênico por 14 dias com aplicação da pasta nano-P no início e ao 7º dia do experimento.

O produto em teste no estudo (Desensibilize Nano-P(FGM, Joinville-SC, Brasil)) possui em sua composição como ingredientes ativos: fosfato de cálcio nanométrico (na forma de hidroxiapatita), fluoreto de sódio (9000 ppm) e nitrato de potássio; como ingredientes inativos: água destilada, espessante, tensoativo, umectante, aroma, adoçante e conservante. A presença de 9000 ppm de flúor inibe a atividade cariogênica das bactérias, previne a desmineralização e potencializa a dessensibilização; já a presença de 5% de nitrato de potássio potencializa a dessensibilização por despolarização das fibras nervosas e a hidroxiapatita presente, por ser nanométrica, penetra com maior facilidade no interior dos túbulos

dentínários e nas microtrincas do esmalte, promovendo um selamento de qualidade dos túbulos e restaurando a microestrutura e a composição química do dente.

O experimento foi subdividido em 5 etapas:

1. Preparação das amostras
2. Microdureza superficial e aleatorização dos blocos para composição dos grupos de estudo
3. Confeção dos aparelhos palatinos
4. Fase clínica , que foi dividida em duas etapas de 14 dias cada.
5. Fase laboratorial, em que foi realizados os testes de microdureza longitudinal e microscopia de luz polarizada.

Como critérios de inclusão: os voluntários deveriam ser alunos do curso de Odontologia, com idade entre 20-25 anos, não estar fazendo uso de antibióticos e nenhum outro medicamento que reduza o fluxo salivar, não ter lesões ativas de cárie.

Os procedimentos realizados durante as etapas do experimento estão ilustrados no fluxograma abaixo (Figura 2).

4.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Incisivos bovinos da raça Nelore, com cerca de 5 anos de idade, do Frigorífico Vangélio Mondelli LTDA (Bauru-SP) foram extraídos e imediatamente estocados em solução aquosa de timol a 0,1%. O esmalte foi limpo por 10 segundos com uma escova de Robinson para profilaxia, em baixa rotação, com uma mistura de pedra pomes + água deionizada e, todos os dentes foram enxaguados com água deionizada. Foram descartados aqueles dentes com manchas, trincas e hipoplasia de esmalte. Um total de 150 dentes foram selecionados. Os dentes foram fixados com godiva exata verde (DFL, Rio de Janeiro-RJ, Brasil) em um suporte de alumínio e então cortados por meio de um disco diamantado 10cm x 0,3mm (Buehler) em uma cortadeira elétrica (Isomet 1000- Buehler). A partir da superfície vestibular desses incisivos foram obtidos blocos de esmalte medindo 5 x 5 x 2 mm. Foi obtido 1 bloco por dente, e estes foram extraídos da porção mais plana da superfície vestibular. Os blocos foram esterilizados por meio de armazenamento em uma solução de formaldeído a 2% por no mínimo um mês. Em seguida, cada bloco de esmalte foi fixado no centro de um disco de acrílico de 3 cm de diâmetro, com cera para escultura (Kota, São Paulo-SP, Brasil). Iniciou-se então o polimento dos blocos de esmalte, utilizando uma politriz com dispositivo para polimento múltiplo (Arotec Aropol 2V). Primeiramente, foi realizada a planificação da dentina, utilizando lixas (Arotec) de granulação 320 por 30s. a 1min, em baixa velocidade. Depois, os blocos foram recolados no disco, com o esmalte voltado para cima, para então ser iniciado o polimento do mesmo. O polimento do esmalte iniciou-se com lixa de granulação 320, com 1 peso, em velocidade baixa, por 1 min. Depois foi utilizada a lixa de granulação 600, com 1 peso, em velocidade alta, por 2 min. ; e após, a lixa de granulação 1200, com 1 peso, em velocidade alta, por 2 min. Para finalizar o polimento, foi utilizado um feltro para polimento (Arotec) + suspensão de diamante de 1 µm, com 1 peso em velocidade alta. Obteve-se então um acabamento espelhado. Os blocos foram deixados em imersão em água deionizada por aproximadamente 12h para que as impurezas fossem removidas, e depois foram secos com papel absorvente e armazenados em recipientes plásticos, na geladeira, umidificados com gaze + água deionizada.

4.2 MICRODUREZA SUPERFICIAL

Os blocos de esmalte fixados nos discos de acrílico foram levados a um microdurômetro (Shimadzu HVM 2000) para que fosse realizada a microdureza superficial. Foram realizadas 3 indentações no centro de cada bloco com uma distância de 100 µm entre elas, por meio do penetrador Knoop. A força utilizada foi de 50g por 5s. As imagens das indentações eram geradas no programa CAMS testing system e então feita a média das 3 indentações, para que se tivesse um valor médio de microdureza. Trinta blocos de esmalte que tiveram durezas abaixo de 200 KNH foram descartados. Os 120 blocos selecionados para o estudo tiveram uma média de dureza de 303,80 KNH ($\pm 47,33$). Todos os blocos ao serem levados para a leitura no microdurômetro, receberam uma numeração, e foi então realizada a aleatorização dos blocos (Excel) para compor 3 grupos de estudo: Controle sem desorganização da placa, Controle com desorganização da placa e Nano-P.

4.3 APARELHOS PALATINOS

Foram confeccionados aparelhos palatinos removíveis com resina acrílica contendo duas cavidades (17mm x 6mm X 4mm), sendo uma de cada lado do aparelho (direito e esquerdo). Três blocos de esmalte bovino foram colados de cada lado com cera para escultura e montados de maneira que a superfície do esmalte ficasse 1 mm abaixo da superfície do aparelho para permitir formação de biofilme (GAMEIRO et al, 2009; CURY, 2003; TENUTA, 2003; CORREIA, 2012). Antes de serem fixados no aparelho, as superfícies dos blocos foram condicionadas com ácido fosfórico a 37% (Maquira, Maringá-PR, Brasil) por 15s, lavados por 15s e secos por 10s com jato de ar. O sistema adesivo (Ambar-FGM, Joinvile-SC, Brasil) foi aplicado de acordo com as instruções do fabricante e braquetes de incisivos (Morelli, Sorocaba-SP, Brasil) foram colados no centro de cada bloco de esmalte com resina composta (Transbond- 3M, Monrovia, CA, USA). Após os 3 blocos de esmalte terem sido fixados no aparelho, fio de niti 0,016” foram colocados nos encaixes (*slots*) dos 3 braquetes de cada lado e fixados com ligaduras elásticas individuais (GAMEIRO et al, 2009).

4.4 FASE CLÍNICA

O estudo foi composto de 2 etapas. Para cada etapa foram confeccionados novos aparelhos. Dez voluntários fizeram uso do aparelho palatino por 28 dias, sendo 14 dias para cada etapa. Cada voluntário recebeu dentifrício sem flúor (Bitufo, Itupeva-SP, Brasil), escova de dente macia (Bitufo, Itupeva-SP, Brasil), água deionizada, gaze e sacarose a 20% (Farmacotécnica- farmácia de manipulação- Maringá-PR, Brasil). Os indivíduos receberam uma lista de instruções onde foram recomendados a escovar os dentes 3 vezes ao dia com dentifrício e escova fornecidos pelo estudo e de abster-se de qualquer outro procedimento de higiene bucal. Foi recomendado para não escovar os blocos de esmalte. Os voluntários foram instruídos a retirar o aparelho e gotejar sacarose a 20% em cada bloco de esmalte 8 vezes ao dia. (GAMEIRO et al, 2009; CURY, 2003) Esperar 5 minutos, e recolocar o aparelho na boca. Foram instruídos também a remover o aparelho da boca somente durante as refeições (deixando uma gaze umedecida com água deionizada em cima dos blocos de esmalte), na hora do gotejamento e para a higiene bucal. Recomendou-se para não comerem ou beberem nada com o aparelho, exceto água. Na primeira etapa do estudo (etapa 1) os blocos de esmalte não receberam tratamento adicional (grupo controle). Os aparelhos foram instalados nos voluntários que foram recomendados a iniciar o gotejamento da sacarose somente no dia seguinte. No 7º dia, de um dos lados do aparelho foi feita a desorganização da placa bacteriana nos blocos de esmalte por meio de um microbrush (FGM, Joinvile-SC, Brasil), simulando o mesmo movimento de aplicação da pasta Nano-P. Os voluntários finalizaram a fase com 14 dias, foi dado um intervalo de 7 dias e iniciou-se a etapa 2. Nesta etapa, novos aparelhos com novos blocos de esmalte foram instalados nos voluntários. Estes blocos receberam tratamento com o produto Desensibilize Nano-P (FGM, Joinvile-SC, Brasil) que contém na sua composição como ingredientes ativos: fosfato de cálcio nanométrico (na forma de hidroxiapatita), fluoreto de sódio (9000 ppm) e nitrato de potássio. A pasta foi aplicada com um microbrush de forma padronizada (grupo Nano-P) e foram colocados na boca, esperando para iniciar o gotejamento no dia seguinte. As mesmas instruções da etapa 1 foram dadas para a etapa 2. No 7º dia, uma nova aplicação do Desensibilize Nano-P (FGM, Joinvile-SC, Brasil) foi realizada totalizando 2 aplicações. Após 14 dias, os aparelhos foram removidos e os blocos de

esmalte reposicionados em seus discos de acrílico. Foram armazenados em recipientes plásticos umidificados com papel absorvente + água deionizada.

4.5 FASE LABORATORIAL

Os blocos de esmalte foram seccionados pela metade no sentido longitudinal com disco diamantado montado em cortadeira elétrica. Metade da amostra foi submetida aos testes de microdureza longitudinal e a outra metade teve sua profundidade analisada por microscopia de luz polarizada.

Microdureza longitudinal- Metade de cada bloco dos voluntários foi incluída em 5 g de resina acrílica, utilizando-se uma embutidora metalográfica (sob pressão de 150Kgf/cm²). Os blocos foram fixados com o plano longitudinal de corte voltado para a superfície da resina acrílica com cola adesiva (Super Bonder – Loctite). As amostras foram submetidas a um processo de polimento da superfície, utilizando uma politriz (Arotec Aropol 2V) com dispositivo para polimento múltiplo por meio de lixas (Arotec) com granulação 320, 600 e 1200 respectivamente, e feltro (Arotec) + suspensão de diamante de 1µm . A análise da microdureza longitudinal dos blocos de esmalte embutidos em resina foi realizada utilizando-se um microdurômetro (Shimadzu HMV 2000) com penerador tipo Knoop com carga de 25g por 5s, fazendo linhas de indentações (10µm, 20µm, 30µm, 50µm, 70µm, 90µm, 110µm)abaixo da base do braquete, a 30µm e a 130 µm a partir da margem do braquete.

Microscopia de luz polarizada- Os blocos foram lixados por meio de uma politriz (Arotec Aropol 2V) para atingirem aproximadamente 100µm de espessura. Em seguida foram avaliados por microscopia óptica de luz polarizada com ampliação de 40x, para avaliar a profundidade das lesões ao redor dos braquetes. Os cortes foram então colocados em lâminas histológicas para observação, utilizando um microscópio Olympus BX50, com uma câmera digital 3CCD Pró-Series acoplada. O programa empregado para captura e análise das imagens foi o Image Pro-Plus (V. 4. 5. 1 da Media Cybernetics). As fotografias dos cortes foram feitas utilizando máxima iluminação e as profundidades de cada lesão foram tomadas em µm, dentro de uma área de 300 µm a partir do término do braquete. Foram tomadas 3 profundidades (na linha do braquete, em 150 µm e em 300 µm) e feita a média das 3 medidas, em µm.

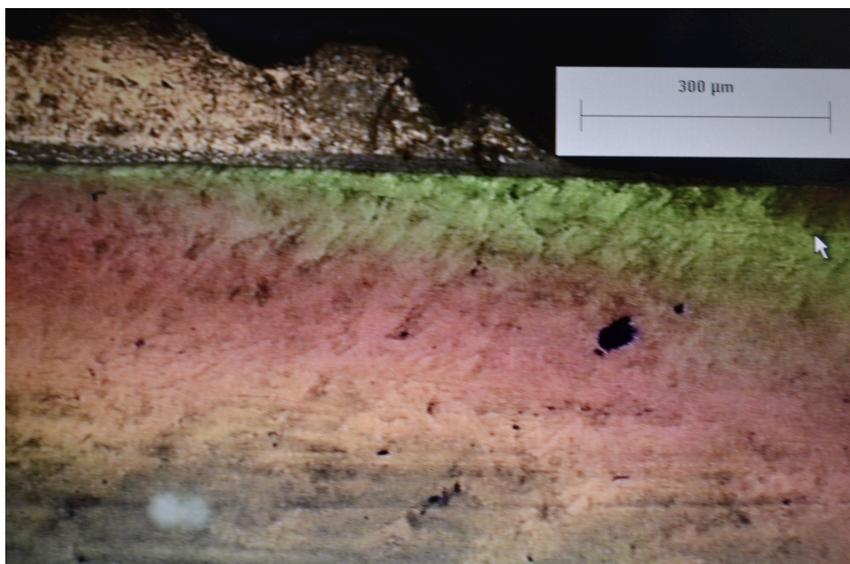


Figura 3- Imagem sob luz polarizada ilustrando a escala (300μm) para referência de mensurações das profundidades dos sitios de descalcificação.

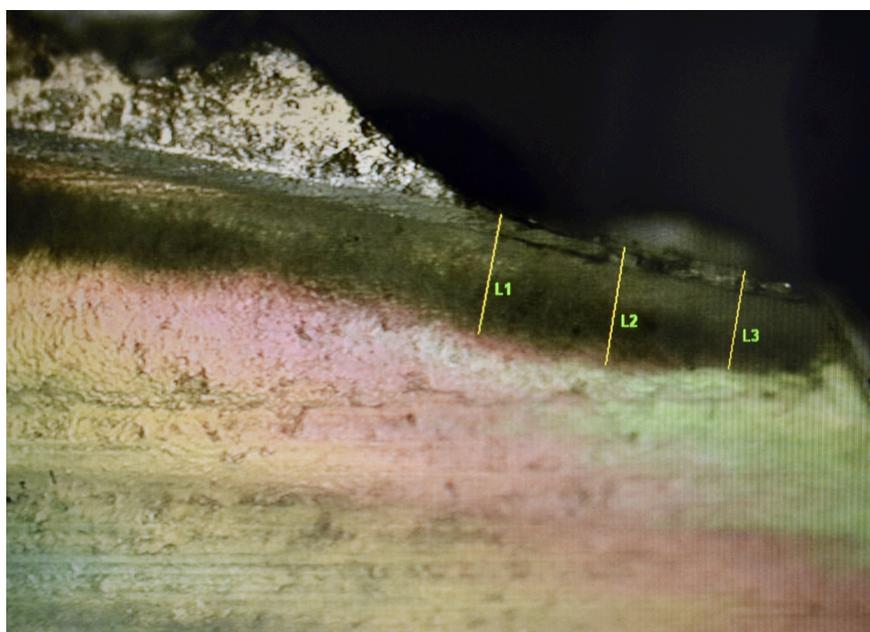


Figura 4- Linhas de referências utilizadas para mensurações das profundidades das lesões.

Os dados obtidos por microdureza longitudinal e microscopia de luz polarizada foram submetidos à análise estatística utilizando o programa SPSS 13.0 (Chicago, IL, USA). O teste aplicado foi ANOVA para medidas repetidas e o nível de significância $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Dois voluntários da pesquisa abandonaram o experimento na segunda etapa, quando foi realizada a aplicação do Desensibilize Nano-P. Portanto, apenas 8 indivíduos concluíram todo o período de estudo. Para todas as comparações foram aplicados o recurso *observed power* do SPSS, que apontou valores acima de 0.8 (poder de teste acima de 80%) para as comparações intergrupos (Anexo C).

5.1 MICRODUREZA LONGITUDINAL

Os dados obtidos a partir das leituras longitudinais de microdureza foram submetidos à análise estatística utilizando o programa SPSS 13.0 (Chicago, IL, USA). O teste aplicado foi ANOVA para medidas repetidas e o nível de significância $p < 0,05$.

As comparações entre os grupos, bem como as intragrupos nas diferentes profundidades de leitura da microdureza, estão apresentadas nas tabelas 1, 2 e 3, respectivamente para as avaliações abaixo do braquete, à 30 μm e à 130 μm da base do braquete.

Nas comparações abaixo do braquete, observa-se que, de um modo geral, não houve diferença entre o controle sem placa desorganizada e o controle com placa desorganizada, porém houve diferença entre a aplicação do Nano-P (grupo 3) e o controle sem desorganização da placa (grupo 1) (tabela 1).

Nas comparações à 30 μm nas profundidades de 10 μm e 20 μm não houve diferença também entre os grupos controles, porém, a aplicação do Nano-P aumentou significativamente a microdureza em comparação aos demais (tabela 2).

Nas comparações à 130 μm de distância da base do braquete, até a profundidade de 70 μm , a aplicação do Nano-P aumentou significativamente a microdureza em comparação aos grupos controle (tabela 3). Enquanto os grupos controles geralmente comportaram-se de forma semelhante.

Embora tenha havido diferenças estatisticamente significantes em apenas algumas profundidades de leitura entre os grupos controles, o fato de desorganizar a placa reduziu um pouco a desmineralização provocada pelo desafio cariogênico *in situ*.

Nas comparações intragrupos para as profundidades de leitura (10 μm , 20 μm , 30 μm , 50 μm , 70 μm , 90 μm e 110 μm) observou-se que, de modo geral, até a profundidade de 50 μm há uma clara interferência tanto da presença do biofilme (desorganizado ou não), quanto da utilização do Nano-P. Após esta profundidade geralmente o impacto do tipo de tratamento reduziu (tabelas 1, 2 e 3 comparações em letras maiúsculas).

Tabela 1 - Comparação entre os 3 grupos nas diferentes profundidades abaixo do braquete

	Controle sem placa desorganizada	Controle com placa desorganizada	Nano-p
10 μm	255.96 KNH \pm 69,20 A a	281.41 KNH \pm 73,34 Aab	310.66KNH \pm 58,63 Ab
20 μm	302.26 KNH \pm 68,72 ABa	336.73 KNH \pm 77,10 Bab	355.25KNH \pm 55,16 Bb
30 μm	307.26 KNH \pm 64,68 B a	352.96 KNH \pm 69,43 Bb	374.29KNH \pm 70,52 Cbc
50 μm	338.76 KNH \pm 62,87 BC a	364.40 KNH \pm 57,40 Bab	391.85 KNH \pm 56,92 Cb
70 μm	339.03 KNH \pm 59,64 C a	357.33 KNH \pm 62,23 Ba	392.50 KNH \pm 45,81 Cb
90 μm	342.56 KNH \pm 63,13 BC a	364.96 KNH \pm 56,92 Bab	397.62 KNH \pm 50,76 Cb
110 μm	339.56 KNH \pm 61,51 C a	363.46 KNH \pm 69,94 Bab	393.64 KNH \pm 58,89 Cb

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha (intergrupos) e letras maiúsculas distintas na mesma coluna (intragrupos) apresentam diferença estatisticamente significativa(ANOVA/TuKey, $p < 0,05$).

Tabela 2 - Comparação entre os 3 grupos nas diferentes profundidades à 30 μm do braquete

	Controle sem placa desorganizada	Controle com placa desorganizada	Nano-p
10 μm	213.49KNH \pm 16.86 AB a	246.09 KNH \pm 18.68 A a	315.56 KNH \pm 77.67 A b
20 μm	277.73 KNH \pm 11.61 B a	312.60 KNH \pm 15.38 B a	370.93 KNH \pm 79.38 B b
30 μm	323.26 KNH \pm 14.90 BC a	339.23 KNH \pm 14.59 B ab	387.50 KNH \pm 78.17 BC b
50 μm	343.06 KNH \pm 13.86 BC a	367.26 KNH \pm 12.91 B ab	394.83 KNH \pm 66.81 BC b
70 μm	338.30 KNH \pm 12.91 BC a	361.03 KNH \pm 12.40 B ab	388.60 KNH \pm 64.88 BC b
90 μm	347.93 KNH \pm 10.64 BC a	364.83 KNH \pm 13.28 B ab	398.04 KNH \pm 55.08 BC b
110 μm	338.36 KNH \pm 11.60 BC a	366.23 KNH \pm 11.34 B ab	401.70 KNH \pm 62.78 C b

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha (intergrupos) e letras maiúsculas distintas na mesma coluna (intragrupos) apresentam diferença estatisticamente significativa (ANOVA/TuKey, $p < 0,05$).

Tabela 3 - Comparação entre os 3 grupos nas diferentes profundidades à 130 µm do braquete

	Controle sem placa desorganizada	Controle com placa desorganizada	Nano-p
10 µm	174.14 KNH± 16.30 A a	232.74 KNH± 17.55 A a	324.19 KNH± 13.21 A b
20 µm	248.36 KNH± 13.22 B a	304.79 KNH± 16.78 B b	359.66KNH± 12.06 A c
30 µm	277.66 KNH± 15.55 BC a	338.80 KNH± 15.15 BC b	395.87 KNH± 10.19 B c
50 µm	348.10 KNH± 11.88 C a	371.16 KNH± 13.14 C a	408.87 KNH± 7.57 B b
70 µm	339.86 KNH± 13.47 C a	370.53 KNH± 10.42 C a	400.41 KNH± 8.87 B b
90 µm	347.90 KNH± 14.44 C a	375.80 KNH± 11.87 C ab	405.97 KNH± 7.66 B b
110 µm	348.50 KNH± 14.19 C a	369.20 KNH± 11.17 C ab	407.18 KNH± 8.41 B b

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha (intergrupos) e letras maiúsculas distintas na mesma coluna (intragrupos) apresentam diferença estatisticamente significativa (ANOVA/TuKey, p<0,05).

As tabela 4, 5 e 6 comparam as leituras dos 3 grupos nas distâncias: abaixo, 30 µm e 130 µm do braquete.

Tabela 4 - Comparação entre as leituras nas diferentes distâncias no grupo Controle sem placa desorganizada

	Abaixo do braquete	À 30 µm do braquete	À 130 µm do braquete
10 µm	253.65 KNH± 69.23 A a	209.33 KNH± 91.09 A b	168.35 KNH± 84.94 A c
20 µm	302.26 KNH± 68.72 B a	277.73 KNH± 68.72 B ab	248.36 KNH± 72.40 B c
30 µm	307.26 KNH± 64.68 B a	323.26 KNH± 81.60 C ab	277.66 KNH± 85.18 B c
50 µm	338.76 KNH± 62.87 C a	343.06 KNH± 75.91 C a	348.10 KNH± 65.10 C a
70 µm	339.03 KNH± 59.64 C a	338.30 KNH± 70.75 C a	339.86 KNH± 73.82 C a
90 µm	342.56 KNH± 63.13 C a	347.93 KNH± 58.31 C a	347.90 KNH± 79.11 C a
110 µm	339.56 KNH± 61.51 C a	338.36 KNH± 63.58 C a	348.50 KNH± 77.74 C a

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha (intergrupos) e letras maiúsculas distintas na mesma coluna (intragrupos) apresentam diferença estatisticamente significativa (ANOVA/TuKey, p<0,05).

Tabela 5 - Comparação entre as leituras nas diferentes distâncias no grupo Controle com placa desorganizada

	Abaixo do braquete	À 30 µm do braquete	À 130 µm do braquete
10 µm	281.41 KNH± 73.34 A a	246.09 KNH± 102.32 Aab	232.74 KNH± 96.14 A b
20 µm	336.73 KNH± 77.10 B a	312.60 KNH± 84.25 Ba	304.79 KNH± 91.92 B a
30 µm	352.96 KNH± 69.43 B a	339.23 KNH± 79.94 BC a	338.80 KNH± 83.01 C a
50 µm	364.40 KNH± 57.40 B a	367.26 KNH± 70.72 C a	371.16 KNH± 71.96 C a
70 µm	357.33 KNH± 62.23 B a	361.03 KNH± 67.96 C a	370.53 KNH± 57.08 C a
90 µm	364.96 KNH± 56.92 B a	364.83 KNH± 72.74 C a	375.80 KNH± 65.02 C a
110 µm	363.46 KNH± 69.94 B a	366.23 KNH± 62.11 C a	369.20 KNH± 61.22 C a

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha (intergrupos) e letras maiúsculas distintas na mesma coluna (intragrupos) apresentam diferença estatisticamente significativa (ANOVA/TuKey, $p < 0,05$).

Tabela 6 - Comparação entre as leituras nas diferentes distâncias no grupo Nano-P

	Abaixo do braquete	À 30 µm do braquete	À 130 µm do braquete
10 µm	310.66 KNH± 58.63 A a	315.56 KNH± 77.67 A a	324.19 KNH± 91.53 A a
20 µm	355.25 KNH± 55.16 B a	370.93 KNH± 79.38 B a	359.66 KNH± 83.55 AB a
30 µm	374.29 KNH± 70.52 BC a	387.50 KNH± 78.17 B a	395.87 KNH± 70.65 BC a
50 µm	391.85 KNH± 56.92 C a	394.83 KNH± 66.81 B a	408.87 KNH± 52.46 C a
70 µm	392.50 KNH± 45.81 C a	388.60 KNH± 64.88 B a	400.41 KNH± 61.48 BC a
90 µm	397.62 KNH± 50.76 C a	398.04 KNH± 55.08 B a	405.97 KNH± 53.11 C a
110 µm	393.64 KNH± 58.89 C a	401.70 KNH± 62.78 B a	407.18 KNH± 58.30 C a

Médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha (intergrupos) e letras maiúsculas distintas na mesma coluna (intragrupos) apresentam diferença estatisticamente significativa (ANOVA/TuKey, $p < 0,05$).

5.2 MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA

Os dados obtidos a partir das leituras de profundidade de desmineralização sob microscopia de luz polarizada foram submetidos à análise estatística utilizando o programa SPSS 13.0 (Chicago, IL, USA). O teste aplicado foi ANOVA para medidas repetidas e o nível de significância $p < 0,05$.

A tabela 7 mostra as comparações intergrupos das médias de profundidades de desmineralização.

Tabela 7 - Comparação das médias de desmineralização entre os grupos

	Média (μm)	desvio padrão
Controle sem desorganização da placa	105,52 ^a	96,34
Controle com desorganização da placa	47,42 ^b	57,96
Nano-P	20,23 ^c	39,47

Letras diferentes para as comparações correspondem a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Os 3 grupos tiveram médias de desmineralização diferentes entre si ($p < 0,05\%$) e a menor média foi do grupo Nano-P (20,23 μm).

Quando foram enumerados os locais em que não houve nenhuma desmineralização, foram encontrados 87 locais, sendo 6,81% do grupo controle sem desorganização da placa, 26,13% do grupo controle com desorganização da placa e 65,9% do grupo Nano-P. A figura 5 demonstra em números inteiros a quantidade desses locais.

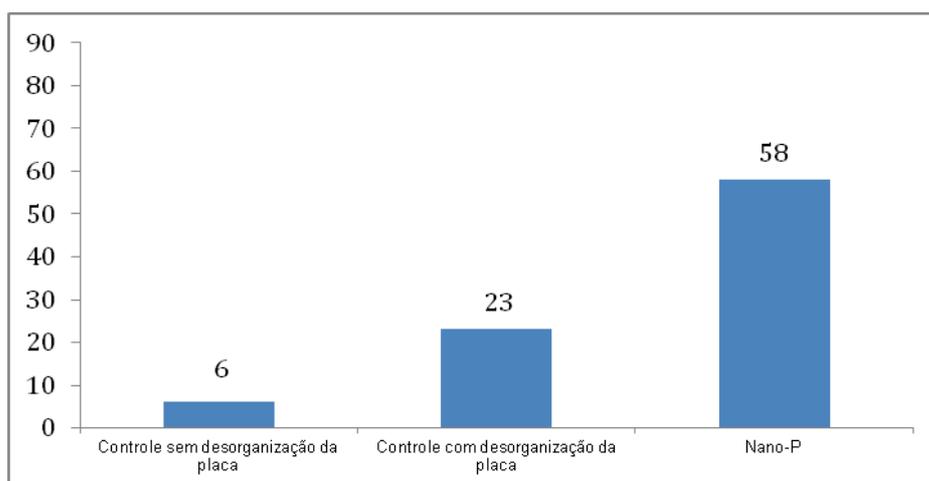


Figura 5 – Gráfico com a distribuição dos espécimes avaliados que não apresentavam pontos de desmineralização.

6 DISCUSSÃO

A desmineralização do esmalte ao redor dos acessórios ortodônticos continua a ser um problema clínico comum, mesmo diante de aplicação de materiais fluoretados, que minimizam, mas não o resolvem por completo (GORELICK et al, 1982; OGAARD et al, 1988; DEMITO et al, 2004; VIVALDI-RODRIGUES et al, 2006). O presente trabalho testou *in situ* um novo material, o Desensibilize® Nano-P, que mostrou-se promissor para a prevenção destas desmineralizações (tabelas 1 a 7).

O modelo *in situ* com dispositivo intrabucal tem sido muito utilizado, pois simula o processo de cárie que ocorre na cavidade bucal. Idealmente deveria envolver todos os fatores etiológicos da cárie dentária como o substrato dentário, a dieta, a formação de biofilme e o fator tempo (ZERO, 1995). As principais vantagens deste tipo de estudo, segundo Zero (1995) seriam a realização na cavidade bucal humana; flexibilidade do modelo experimental; facilidade do controle das variáveis; curto tempo operacional e menor custo quando comparado aos estudos clínicos longitudinais. Dentre as desvantagens estariam a limitação do número de voluntários (pela própria natureza do estudo *in situ*) e a alta dependência da colaboração dos participantes. No presente estudo, 2 voluntários não prosseguiram na etapa de aplicação do material em teste (Nano-P), ficando o estudo com 8 voluntários.

O modelo adotado no presente trabalho incluiu as modificações sugeridas por Gameiro et al, em 2009, que inclui braquetes colados aos blocos de esmalte. Ficou claro o acúmulo de biofilme no esmalte ao redor dos braquetes, bem como a desmineralização no local, consolidando o modelo. O grupo que recebeu o regime terapêutico de aplicação do produto nano-P (FGM) mostrou menor desmineralização comparado com os grupos que não receberam.

No presente estudo o grupo controle foi dividido para receber em metade dele um procedimento de desorganização do biofilme, com o intuito de simular a aplicação de um produto como o Nano-P. Desta forma, poder-se-ia reconhecer o efeito isolado do produto, excluindo-se o simples fato da desorganização da placa. Geller (2007) e Holmen (2008) observaram que a profilaxia com jato de bicarbonato ou com remoção da placa com bolinha de algodão, causam por si, uma redução da desmineralização em estudos *in situ*. Embora não tenha sido realizada uma

profilaxia propriamente dita, pois não era o propósito do presente trabalho, a desorganização da placa reduziu, de fato, as lesões de desmineralização no grupo 2 (tabelas 1 a 3). Porém, ainda assim, o grupo que recebeu o Nano-P reduziu significativamente as lesões sob microscopia óptica polarizada (tabela 7), quanto a desmineralização avaliada pela microdureza, especialmente à 130 μ m (tabela 3).

Estudos prévios *in vitro* e *in vivo* que também utilizaram produtos fluoretados já demonstravam um potencial preventivo ou redutor da desmineralização. (TOOD ET AL,1999 DEMITO ET AL, 2004; DEMITO ET AL, 2011; VIVALDI-RODRIGUES ET AL, 2006) .

Outros estudos apontaram que programas preventivos de utilização do flúor por meio de bochechos de uso diário (OGAARD ET AL, 1988; GORELICK ET AL,1982) podem proteger o paciente ortodôntico da formação de manchas brancas, porém dependem da colaboração dos pacientes para atingir estes objetivos. A aplicação tópica de vernizes fluoretados contendo 5000ppm de flúor apresenta-se vantajosa neste aspecto, por depender apenas da aplicação trimestral profissional, reduzindo a influência da colaboração nos seus resultados (DEMITO ET AL, 2004, 2011; TOOD ET AL,1999; VIVALDI-RODRIGUES ET AL, 2006) . Em média estes métodos reduzem entre 40 e 50% da incidência das lesões de manchas brancas ao redor dos braquetes.

Além do efeito conhecido do flúor, a nanohidroxiapatita presente no produto em estudo, colabora com a mineralização da camada externa das lesões de mancha branca, por meio da deposição de nanopartículas de apatita nos defeitos do esmalte desmineralizado (HUANG, 2009, 2011; HANNING, 2012). Além disso, a nanohidroxiapatita age para proporcionar uma fonte de cálcio para a cavidade bucal, aumentando os níveis de cálcio e levando assim, a uma limitação aos desafios ácidos através da redução da desmineralização do esmalte, enquanto promove a remineralização do mesmo. O mecanismo de remineralização pela nanohidroxiapatita atua então como um reservatório de fosfato de cálcio, ajudando a manter um estado de sobressaturação no que diz respeito aos minerais do esmalte, diminuindo assim a desmineralização e potencializando a remineralização. Huang et al, 2011 constataram que a nanohidroxiapatita promove remineralização preferencial na camada superficial da lesão do esmalte, mas não é viável sob condições neutras, enquanto que sob condições ácidas ela pode acelerar significativamente a taxa, a profundidade, e a extensão da remineralização de lesões incipientes. Isto está de

acordo com o que foi encontrado neste trabalho, pois em condições cariogênicas (gotejamento de sacarose a 20% 8x/dia) o produto nano-P (nanohidroxiapatita + flúor) mostrou-se eficaz na proteção contra a desmineralização do esmalte, corroborando a literatura (HUANG 2009, 2010, 2011). Mesmo na camada abaixo do braquete, o grupo Nano-P apresentou maior microdureza do que os controles, especialmente onde o biofilme não foi desorganizado, para todas as profundidades de leitura (tabela 1). Também é interessante o fato de que no grupo Nano-P as leituras abaixo do braquete, à 30 μ m e à 130 μ m, não diferiram quanto à microdureza (tabela 6).

Em relação às distâncias em que foram medidas as microdurezas longitudinais do esmalte, observa-se que houve melhor preservação mineral abaixo do braquete para todos os grupos (tabelas 4 a 6), corroborando com outros estudos da literatura (GAMEIRO, 2009; PASCOTO, 2004, MOURA, 2006; OGAARD 1992). Isto porque o esmalte estaria teoricamente protegido do efeito cariogênico do biofilme acumulado. Porém, apesar da maior preservação mineral abaixo do braquete, nota-se que, especialmente nos grupos controles, os valores de microdureza nesta linha de leitura eram menores à 10 μ m, o que poderia ser explicado pelo ataque ácido que precede a colagem do braquete ortodôntico. A distância de 130 μ m da base do braquete mostrou mais nitidamente o comportamento dos grupos (tabela 3).

Nas diferentes profundidades de leitura, à 130 μ m, a microdureza sempre foi significativamente menor no grupo controle sem desorganização da placa em comparação ao Nano-P (tabela 3). E até a linha de leitura à 70 μ m, o grupo Nano-P mostrou maiores valores de microdureza também quando comparado ao controle com desorganização da placa (tabela 3).

Quando se avaliou a profundidade da lesão por microscopia de luz polarizada, observou-se maiores médias de desmineralização para o grupo controle sem desorganização da placa, seguido do controle com desorganização da placa e Nano-P , corroborando o comportamento avaliado pela microdureza.

Interessante observar que o número de espécimes com esmalte íntegro sob microscopia de luz polarizada foi notadamente maior no grupo Nano-P (figura 7), em oposição aos grupos controles com ou sem desorganização da placa (figura 8). Este fato mostra-se clinicamente relevante e inspira um futuro estudo *in vivo* para verificar o seu comportamento em pacientes ortodônticos. Também numa etapa posterior,

será testada a correlação das leituras de microdureza a 130 μ m de distância com as profundidades máximas de lesão.

Os resultados demonstrados nesta pesquisa indicam que a aplicação do produto Desensibilize® Nano-P, num modelo *in situ*, foi eficaz na prevenção da desmineralização adjacente ao braquete ortodôntico.

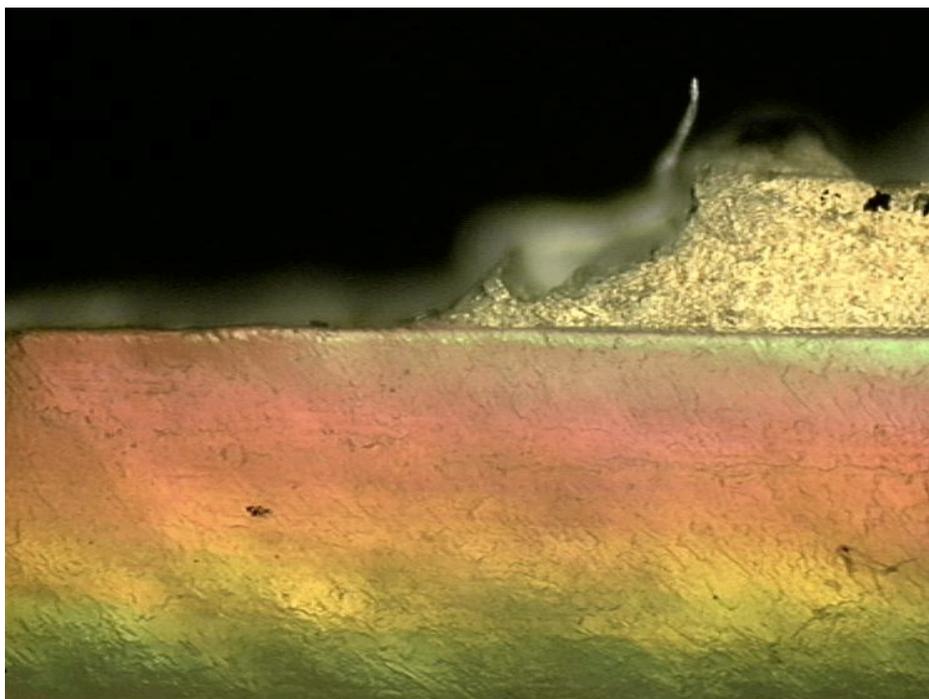


Figura 6- Espécime sem desmineralização

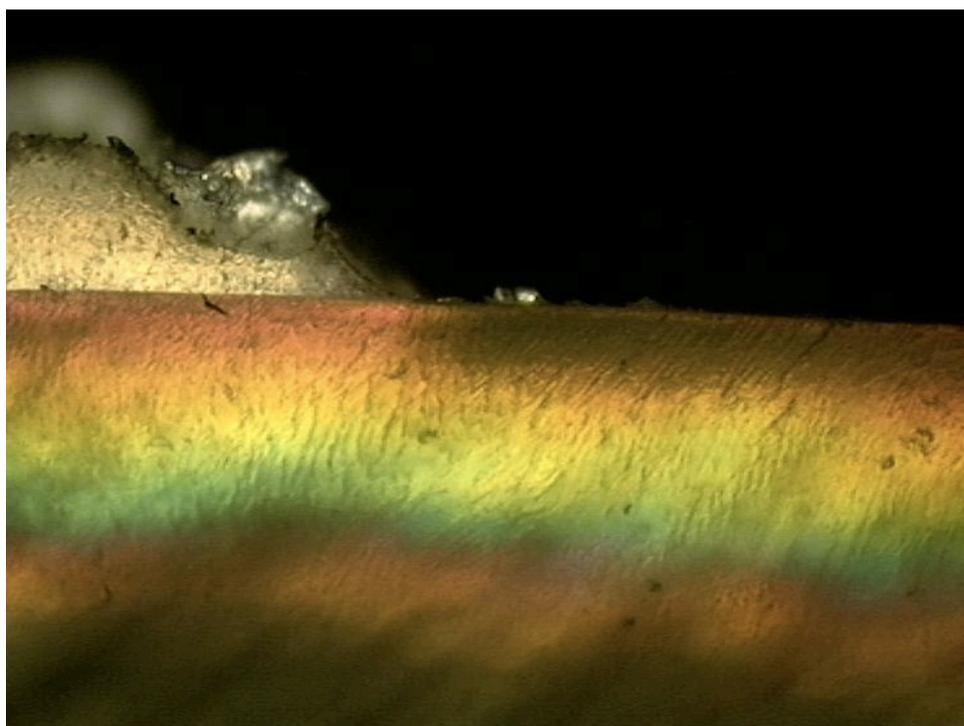


Figura 7- Espécime com desmineralização

7 CONCLUSÃO

Considerando-se a metodologia e os dados derivados do presente estudo, podemos concluir que o produto contendo nano-hidroxiapatita associada ao fluoreto apresentou efeito preventivo sobre a desmineralização do esmalte adjacente aos braquetes ortodônticos, podendo ser uma alternativa no tratamento de pacientes de alto risco à cárie.

REFERÊNCIAS

AKIN, M.; BASCIFTCIB F.A. Can white spot lesions be treated effectively? **Angle Orthod**, v. 82, n. 5, p.770-75, 2012.

CORREIA, M.F.; TENUTA, L.M.A.; DEL BEL CURY A.A.; CURY, J. A. Mineral Ions in the Fluid of Biofilms Formed on Enamel and Dentine Shortly after Sugar Challenge. **Caries Research**, v. 46, p. 408–412, 2012.

CURY, J.A.; MARQUES, A.S.; TABCHOURY C.P.M.; DEL BEL CURY A.A. Composition of Dental Plaque Formed in the Presence of Sucrose and after its Interruption. **Braz Dent J**, v.14, n. 3, p. 147-152, 2003.

DEMITO, C.F.; VIVALDI- RODRIGUEZ, G.; RAMOS, A. L.; BONMAN, J.S. The efficacy of a fluoride varnish in reducing enamel demineralization adjacent to orthodontic brackets: an in vitro study. **Orthod Craniofacial Res**, Oxford, v.7, p. 205-210, 2004.

DEMITO, C.F.; VIVALDI- RODRIGUEZ, G.; RAMOS, A. L.; BONMAN, J.S. Efficacy of a fluoride varnish in preventing white-spot lesions as measured with laser fluorescence. **Journal of Clinical Orthodontics**, v. 45,n. 1, Jan. 2011.

GAMEIRO, G. H.; NOUER, D.F.; CENCI, M.,S.; CURY,J.A. Enamel demineralization with two forms of archwire ligation investigated using an *in situ* caries model — a pilot study. **European Journal of Orthodontics**, v.31, p. 542–46, 2009.

GEIGER, A.; GORELICK, L.; GWINNETT, A.; GRISWOLD, P. The effect of a fluoride program on white spot formation during orthodontic treatment.**American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v. 93, no. 1, p. 29-37, Jan. 1988.

GELLER D.P. Avaliação da desmineralização produzida por desafio cariogênico *in situ* em esmalte dentário com diferentes idades pós eruptivas. **Dissertação de Mestrado- FOB-USP**, Bauru, 2007.

GORELICK, L.; GEIGER, A. Incidence of white spot formation after bonding and banding. **Am J Orthod**, St. Louis, v.81, p.403-407, 1982.

HADLER-OLSEN, S.; SANDVIK, K.; EL-AGROUDI, MA.; OGAARD,B. The incidence of caries and white spot lesions in orthodontically treated adolescents with a comprehensive caries prophylactic regimen- a prospective study. **European Journal of Orthodontics**, v. 34, p. 633-39, 2012.

HANNING M.; HANNING C. Nanotechnology and its Role in Caries therapy. **Advances Dental Research**, v.24, n. 2, p. 53-57, 2012.

HOLMEN L.; MEJARE I.; MALMGREN B.; THYLSTRUP A. The effect of regular professional plaque removal on dental caries "in vivo". A polarized light and scanning electron microscope study. **Caries Research**, v.22, n.4, p.250-6, 1988.

HUANG S.B.; GAO S.S.; YU H.Y. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. **Biomedical Materials**, v.4 (034104), 2009.

HUANG S.; GAO S.; CHENG L.; YU H. (2010). Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralization of initial enamel lesion *in vitro*. **Journal of Dentistry**, v. 38, p. 811-19, 2010.

HUANG S.; GAO S.; CHENG L.; YU H. Remineralization Potential of Nano-Hydroxyapatite on Initial Enamel Lesions: An in vitro Study. **Caries Research**, v.45, p. 460-8, 2011.

KLUKOWSKA, M.; BADER, A.; ERBE, C.; BELLAMY, P.; WHITE, D.J.; ANASTASIA, M. K.; WEHRBEIN, H. Plaque levels of patients with fixed orthodontic appliances measured by digital plaque image analysis. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 139, n. 5, p. e463-70 ,May 2011.

MOURA M S, SIMPLÍCIO A H M, CURY J A. *In-vivo* effect of fluoridated antiplaque dentifrice and bonding material on enamel demineralization adjacent to orthodontic appliances. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 130: 357–363, 2006.

NAJIBFARD, K.; RAMALINGAM, K.; CHEDJIEU I.; AMAECHI BT. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. **J Clin Dent**, v 22, n. 5, p. 139-43, 2011.

OGAARD, B.; ROLLA, G.; ARENDS, J. Orthodontic appliances and enamel desmineralization Part 1. Lesion development. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v. 94, no 1, p. 68-73, Jul.1988.

OGAARD, B.; REZK-LEGA, F.; RUBEN, J.; ARENDS, J. Cariostatic effect and fluoride release from a visible light-curing adhesive for bonding of orthodontic brackets. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St Louis, v. 101, p.303-307, Apr., 1992.

O'REILLY, M.; FEATHERSTONE, J. Desmineralization and remineralization around orthodontic appliances: An in vivo study. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v.92, no 1, p.33-40, Jul. 1987.

PASCOTTO R. C., NAVARRO M. F. L., CAPELOZZA FILHO L., CURY J. A. *In vivo* effect of a resin-modified glass ionomer cement on enamel demineralization around orthodontic brackets. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics** 125: 36–41, 2004.

SHEN, P.; MANTON, D. J.; COCHRANE, N. J.; WALKER, G. D.; YUAN, Y.; REYNOLDS, C.; REYNOLDS, E. C. Effect of added calcium phosphate on enamel remineralization by fluoride in a randomized controlled in situ trial. **Journal of Dentistry**, v. 39, p. 518-25, 2011.

SILVA K.G.; PEDRINI D.; DELBEM A.C.; FERREIRA L.; CANNON. M. In situ evaluation of the remineralizing capacity of pit and fissure sealants containing amorphous calcium phosphate and/or fluoride. **Acta Odontol Scand**, England, v. 68, n. 1, p. 11-8, Jan. 2010.

SOUZA D.C.C., HASHIZUME L.N., EIDELWEIN M., MALTZ M. Effect of different frequencies of fluoride dentifrice and mouthrinse administration: an in situ study. **Brazilian Oral Research**., v 24, n. 4, p. 388-93, out-dez., 2010.

TENUTA, L.M.A.; LIMA, J. E. O.; CARDOSO CELSO L. C.; TABCHOURY, C.P.M.; CURY, J. A. Effect of plaque accumulation and salivary factors on enamel demineralization and plaque composition *in situ*. **Pesq Odontol Bras**, v. 17, n. 4, p.326-31, 2003.

TSCHOPPE, P.; ZANDIM, D.L.; MARTUS, P.; KIELBASSA, A. M. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. **Journal of Dentistry**, v. 39, p. 430-37, 2011.

TUFEKCI ET, E.; DIXON, J. S., GUNSOLLEY, J. C.; LINDAUER, S.J. Prevalence of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances. **Angle Orthod**, v. 81, n. 2, p. 206-10, 2011.

TODD M.A.; STALEY R.N.; KANELLIS M.J.; DONLY K.J.; WEFEL, J.S. Effect of a fluoride varnish on demineralization adjacent to orthodontic brackets. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v.116, p. 159-67. 1999.

VIVALDI-RODRIGUES, G.; DEMITO, C. F.; BONMAN, J.S.; RAMOS, A. L..The effectiveness of a fluoride varnish in preventing the development of white spot lesions. **World J Orthod**, v.7, no 2, p.138-144, 2006.

WALKER G.D, CAI F.; SHEN P.; ADAMS G.G.; REYNOLDS C.; REYNOLDS E. C. Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate incorporated into sugar confections inhibits the progression of enamel subsurface lesions in situ. **Caries Research**, v. 44, p. 33–40, 2010.

ZERO D.T. in situ caries models. **Advances Dental Research**, v. 9, n. 3, p. 214-230, November, 1995.

APÊNDICES

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO

Convite

O Senhor (a) está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada AVALIAÇÃO DO EFEITO DA NANO-HIDROXIAPATITA ASSOCIADA AO FLUORETO DE SÓDIO NA PREVENÇÃO DAS LESÕES DE MANCHA BRANCA DE ESMALTE que visa investigar a prevenção das lesões de mancha branca (cárie) de esmalte que ocorrem ao redor dos braquetes ortodônticos, por meio da aplicação do produto Desensibilize Nano-P(FGM).

Justificativas, objetivos e procedimentos

Várias pesquisas realizadas em todo mundo já relataram que o tratamento ortodôntico com aparelhos fixos (pecinhas coladas nos dentes) predispõe os pacientes a um acúmulo maior de placa bacteriana ao redor dos mesmos. Geralmente, isto ocorre pela dificuldade de higienização dos dentes gerada por esses acessórios colados. O acúmulo de placa na superfície dos dentes leva à formação de lesões de mancha branca no esmalte dentário, que são áreas de perdas de minerais do dente. Essas lesões podem surgir em apenas algumas semanas após a instalação do aparelho, até mesmo entre as consultas ortodônticas, portanto muitos estudos vêm sendo realizados buscando produtos que possam minimizar ou até mesmo eliminar esse problema. Assim, este estudo que envolverá 10 (dez) voluntários tem por objetivo avaliar o efeito da pasta Desensibilize Nano-P(FGM) na prevenção da formação de manchas brancas de esmalte.

Os voluntários farão uso de um aparelho removível que ficará no “céu da boca” contendo pedaços (blocos) de dentes de boi (esterilizados) com pecinhas de metal coladas nesses dentes. O aparelho deverá ser usado por 28 dias (2 etapas de 14 dias) e uma solução de açúcar deverá ser gotejada 08 vezes ao dia sobre os blocos. Os aparelhos só deverão ser removidos da boca para as refeições e para o gotejamento.

Riscos

Desensibilize Nano-P- O produto será aplicado fora da boca do voluntário, portanto os riscos são praticamente nulos, mas se o voluntário sentir qualquer desconforto (em particular àqueles indivíduos com disfunção renal ou desequilíbrio do metabolismo do íon cálcio) deverá informar imediatamente a equipe de pesquisa e dirigir-se ao Hospital Universitário Regional de Maringá- PR (Av. Mandacaru, 1590, zona 07, fone: 3011-9100). O voluntário terá direito à assistência integral à saúde e esta será gratuita, caso ocorra algum dano decorrente da sua participação no estudo.

Aparelho removível- O aparelho poderá causar desconforto como dor, ardência ou queimação no “céu da boca” caso fique pressionando em excesso o mesmo. Se houver qualquer desconforto em relação ao uso do aparelho, a equipe de pesquisa deverá ser comunicada.

Açúcar- O excesso de açúcar na dieta pode levar ao aumento do número de bactérias bucais, portanto como será utilizada uma grande quantidade da substância, os voluntários deverão realizar uma ótima higienização bucal para evitar a formação de placa bacteriana em seus dentes.

Benefícios

O beneficiorelacionado à sua participação será de contribuir para o aumento do conhecimento científico que é trazido por meio de pesquisas.

Custos

Os voluntários não terão nenhum custo ou quaisquer compensações financeiras. Como os voluntários serão alunos do curso de Odontologia da UEM, as visitas à clínica odontológica serão agendadas naqueles dias em que os alunos já estarão na clínica. Caso seja necessária alguma

consulta em dias que os alunos não estejam na clínica, a equipe de pesquisa fará o ressarcimento de despesas como transporte e alimentação.

Liberdade de recusar ou retirar o consentimento sem penalização e garantia de sigilo e privacidade

Você ou seu responsável tem a liberdade de participar, recusar ou retirar o consentimento sem qualquer problema e a qualquer momento, e o coordenador do projeto garantirá sigredo sobre as informações prestadas e obtidas no estudo.

Divulgação

Após a conclusão do estudo, haverá informação aos participantes sobre a descoberta da pesquisa em geral, e a mesma será divulgada em revistas científicas.

Este documento possui duas vias, sendo que uma via ficará retida com o pesquisador responsável e a outra via com o voluntário da pesquisa.

Eu, _____, após ter lido e entendido as informações e esclarecido todas as minhas dúvidas referentes a este estudo com o Professor Dr. Adilson Luiz Ramos e com a pós-graduanda do Mestrado em Odontologia Integrada Carina Faleiros Demito aceito a participar do mesmo.

Assinatura (do voluntário ou responsável) ou impressão datiloscópica

Data: ___ / ___ / ___

Eu, Prof. Dr. Adilson Luiz Ramos, declaro que forneci todas as informações referentes ao estudo ao voluntário.

Assinatura

Data: ___ / ___ / ___

Equipe

1. Nome: Adilson Luiz Ramos
Endereço Completo: Rua Arthur Thomas, 831, zona 01
Telefone: 3222-53-37
2. Nome: Carina Faleiros Demito
Endereço Completo: Av. XV de Novembro, 618, sala 03, centro
Telefone: 3222-77-13

Esclarecimentos

Qualquer dúvida ou maiores esclarecimentos procurar um dos membros da equipe do projeto ou o Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (COPEP) da Universidade Estadual de Maringá - Sala 01 - Bloco 010 - Campus Central/ Telefone: (44) 3261-4444

APÊNDICE B

INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS

- ✓ Você deverá usar o aparelho em todos os momentos
- ✓ Só remover da boca durante as refeições, higiene bucal e para o gotejamento da sacarose
- ✓ o gotejamento da sacarose só deverá ser iniciado após 24h do uso da placa
- ✓ a sacarose deverá ser gotejada 8 vezes por dia em cima de cada bloco de esmalte
- ✓ após gotejar, esperar 5 minutos para recolocar o aparelho na boca
- ✓ utilizar sempre a escova e creme dental fornecidos pela pesquisa
- ✓ quando remover o aparelho para as refeições, umedecer uma gaze com água deionizada e colocar sobre os blocos de esmalte
- ✓ ao higienizar o aparelho, NÃO ESCOVAR os blocos de esmalte
- ✓ Não comer ou beber nada com o aparelho, exceto água.
- ✓ Se precisar usar a cera ortodôntica, colocar uma bolinha pequena em cima do braquete, não deixando a cera cobrir o esmalte.
- ✓ se sentir qualquer tipo de desconforto ou tiver alguma dúvida, por favor entre em contato (Carina- fones abaixo)

Fones para contato:

- celular - 9984-07-06
- consultório- 3222-77-13
- casa- 3262-66-96

ANEXOS

ANEXO A (Comitê de ética)**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DA NANO-HIDROXIAPATITA ASSOCIADA AO FLUORETO DE SÓDIO NA PREVENÇÃO DAS LESÕES DE MANCHA BRANCA DE ESMALTE.

Pesquisador: Adilson Luiz Ramos **Área Temática:** Área 5. Novos procedimentos ainda não consagrados na literatura. **Versão:** 3 **CAAE:** 04731512.4.0000.0104 **Instituição Proponente:** Universidade Estadual de Maringá

DADOS DO PARECER Número do Parecer: 160.519

Data da Relatoria: 26/11/2012

Apresentação do Projeto:

Trata-se de pesquisa de área temática especial - área 5: novos procedimentos ainda não consagrados na literatura -, proposta por pesquisador vinculado ao Departamento de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá.

Objetivo da Pesquisa:

O pesquisador pretende comparar as áreas de esmalte que receberam aplicação da pasta Desensibilize Nano P(FGM) com as que não receberam (grupo controle), verificando a microdureza superficial dos blocos de esmalte após o tratamento com o produto e a profundidade das lesões nos blocos por

meio de luz polarizada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não obstante os possíveis riscos a que estarão submetidos os sujeitos da pesquisa sejam suplantados pelos benefícios obtidos com a investigação, os riscos e desconfortos eventuais, ainda que mínimos, deverão ser devidamente informados aos sujeitos de pesquisa, de modo a prover a devida instrução dos mesmos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa envolverá a participação de dez sujeitos que utilizarão um aparelho palatino removível confeccionado pelo pesquisador com a presença de esmalte bovino que receberão o produto Desensibilize Nano-P. Antes da aplicação do produto, os voluntários usarão o aparelho por 24h.

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG **Bairro:** Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900 **UF:** PR **Município:** MARINGÁ **Telefone:** (44)3011-4444 **Fax:** (44)3011-4518 **E-mail:** copep@uem.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

As aplicações do Desensibilize Nano-P(FGM) serão realizadas a cada 3 dias totalizando 4 aplicações. Serão distribuídos dentifrícios sem flúor e escovas de dente padronizados. Os indivíduos serão instruídos a escovar os dentes três vezes ao dia e de abster-se de qualquer outro procedimento de higiene bucal. Os blocos de esmalte não deverão ser escovados. Os voluntários serão instruídos a retirar o aparelho e gotejar sacarose a 20% em cada bloco de esmalte 8 vezes ao dia. Após 5 minutos, o aparelho deverá ser recolocado na boca. O aparelho só deverá ser removido durante as refeições e na hora do gotejamento. Os voluntários usarão o aparelho por 14 dias (etapa 1), farão uma pausa de 1 semana, e depois usarão por mais 14 dias (etapa 2).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Presentes todos os termo de apresentação obrigatória em conformidade com a Resolução 196/1996-CNS.

Recomendações:

A pesquisa somente poderá ser iniciada após a aprovação do protocolo pela CONEP, tendo em vista a classificação pelo PESQUISADOR de estudo de área temática especial, a despeito das orientações deste comitê.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Comitê de Ética em Pesquisa é de parecer favorável à aprovação do protocolo de pesquisa, com a remessa à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para a apreciação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa é de parecer favorável à aprovação do protocolo de pesquisa, com a remessa à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para a apreciação.

MARINGA, 01 de Dezembro de 2012

Assinador por:

Ieda Harumi Higarashi (Coordenador)

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG **Bairro:** Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900 **UF:** PR **Município:** MARINGA **Telefone:** (44)3011-4444 **Fax:** (44)3011-4518 **E-mail:** copep@uem.br

ANEXO B (poder do teste para as comparações intragrupos)

MICRODUREZA DISTANCIAS

OUTPUT CONTROLE 10

Estimates

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	253.655	12.857	227.319	279.992	.995
2	209.334	16.917	174.683	243.986	.995
3	168.359	15.774	136.048	200.669	.995
					.995

OUTPUT CONTROLE 20

Estimates

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	302.267	12.548	276.604	327.930	.836
2	277.733	11.612	253.985	301.482	.836
3	248.367	13.220	221.329	275.404	.836
					.836

OUTPUT CONTROLE 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	307.267	11.810	283.113	331.421	.862
2	323.267	14.900	292.793	353.740	.862
3	277.667	15.553	245.858	309.475	.862
					.862

OUTPUT CONTROLE 50**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	338.767	11.479	315.290	362.244	.113
2	343.067	13.860	314.720	371.413	.113
3	348.100	11.887	323.789	372.411	.113
					.113

OUTPUT CONTROLE 70**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	339.033	10.890	316.761	361.305	.051
2	338.300	12.919	311.878	364.722	.051
3	339.867	13.478	312.301	367.432	.051
					.051

OUTPUT CONTROLE 90**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	342.567	11.527	318.992	366.141	.069
2	347.933	10.647	326.158	369.708	.069
3	347.900	14.444	318.359	377.441	.069
					.069

OUTPUT CONTROLE 110**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	339.567	11.231	316.597	362.536	.093
2	338.367	11.609	314.625	362.109	.093
3	348.500	14.193	319.471	377.529	.093
					.093

OUTPUT MEXIDO 10**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	281.410	13.391	254.023	308.797	.605
2	246.097	18.681	207.889	284.304	.605
3	232.740	17.553	196.840	268.640	.605
					.605

OUTPUT MEXIDO 20**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	336.733	14.078	307.941	365.525	.554
2	312.600	15.382	281.140	344.060	.554
3	304.790	16.783	270.464	339.116	.554
					.554

OUTPUT MEXIDO 30**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	352.967	12.677	327.038	378.895	.243
2	339.233	14.596	309.382	369.085	.243
3	338.800	15.156	307.802	369.798	.243
					.243

OUTPUT MEXIDO 50**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	364.400	10.481	342.964	385.836	.076
2	367.267	12.912	340.858	393.675	.076
3	371.167	13.140	344.293	398.041	.076
					.076

OUTPUT MEXIDO 70

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	357.333	11.362	334.095	380.571	.266
2	361.033	12.409	335.655	386.412	.266
3	370.533	10.423	349.216	391.850	.266
					.266

OUTPUT MEXIDO 90**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	364.967	10.393	343.710	386.224	.194
2	364.833	13.281	337.670	391.997	.194
3	375.800	11.872	351.519	400.081	.194
					.194

OUTPUT MEXIDO 110**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	363.467	12.770	337.350	389.584	.082
2	366.233	11.340	343.041	389.426	.082
3	369.200	11.179	346.337	392.063	.082
					.082

OUTPUT NANO 10**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	310.667	8.463	293.641	327.693	.149
2	315.563	11.211	293.009	338.116	.149
3	324.196	13.213	297.616	350.776	.149
					.149

OUTPUT NANO 20**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	355.250	7.963	339.231	371.269	.290
2	370.938	11.458	347.886	393.989	.290
3	359.667	12.060	335.404	383.929	.290
					.290

OUTPUT NANO 30

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	374.292	10.179	353.815	394.769	.727
2	387.500	11.283	364.802	410.198	.727
3	395.875	10.199	375.358	416.392	.727
					.727

OUTPUT NANO 50**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	391.854	8.217	375.324	408.384	.503
2	394.833	9.644	375.432	414.234	.503
3	408.875	7.572	393.641	424.109	.503
					.503

OUTPUT NANO 70**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	392.500	6.612	379.198	405.802	.379
2	388.604	9.365	369.765	407.444	.379
3	400.417	8.874	382.564	418.269	.379
					.379

OUTPUT NANO 90**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	397.625	7.328	382.883	412.367	.318
2	398.042	7.950	382.047	414.036	.318
3	405.979	7.667	390.555	421.403	.318
					.318

OUTPUT NANO 110**Estimates**

Measure: MEASURE_1

distance	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	393.646	8.501	376.544	410.748	.319
2	401.708	9.062	383.477	419.940	.319
3	407.188	8.415	390.258	424.117	.319
					.319

MICRODUREZA PROFUNDIDADE**OUTPUT CONTROLE 30****Estimates**

Measure: MEASURE_1

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	214.952	17.220	160.151	269.753	.256
2	274.296	9.348	244.546	304.047	.256
3	321.722	9.204	292.431	351.014	.256
4	341.370	10.726	307.235	375.505	.256
5	347.741	9.645	317.047	378.435	
6	337.556	11.042	302.415	372.696	
7	350.259	4.417	336.203	364.315	

OUTPUT CONTROLE 130**Estimates**

Measure: MEASURE_1

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	174.147	16.301	140.808	207.486	1.000
2	248.367	13.220	221.329	275.404	1.000
3	277.667	15.553	245.858	309.475	1.000
4	348.100	11.887	323.789	372.411	1.000
5	339.867	13.478	312.301	367.432	
6	347.900	14.444	318.359	377.441	
7	348.500	14.193	319.471	377.529	

OUTPUT CONTROLE ABAIXO

Estimates

Measure: MEASURE_1

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	255.967	12.634	230.126	281.807	.994
2	302.267	12.548	276.604	327.930	.994
3	307.267	11.810	283.113	331.421	.994
4	338.767	11.479	315.290	362.244	.994
5	339.033	10.890	316.761	361.305	
6	342.567	11.527	318.992	366.141	
7	339.567	11.231	316.597	362.536	

OUTPUT MEXIDO 30

Measure: MEASURE_1

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	246.097	18.681	207.889	284.304	.994
2	312.600	15.382	281.140	344.060	.994
3	339.233	14.596	309.382	369.085	.994
4	367.267	12.912	340.858	393.675	.994
5	361.033	12.409	335.655	386.412	
6	364.833	13.281	337.670	391.997	
7	366.233	11.340	343.041	389.426	

OUTPUT MEXIDO 130

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	232.740	17.553	196.840	268.640	.996
2	304.790	16.783	270.464	339.116	.996
3	338.800	15.156	307.802	369.798	.996
4	371.167	13.140	344.293	398.041	.996
5	370.533	10.423	349.216	391.850	
6	375.800	11.872	351.519	400.081	
7	369.200	11.179	346.337	392.063	

OUTPUT MEXIDO ABAIXO

Estimates

Measure: MEASURE_1

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	281.410	13.391	254.023	308.797	.994
2	336.733	14.078	307.941	365.525	.994
3	352.967	12.677	327.038	378.895	.994
4	364.400	10.481	342.964	385.836	.994
5	357.333	11.362	334.095	380.571	
6	364.967	10.393	343.710	386.224	
7	363.467	12.770	337.350	389.584	

OUTPUT NANO 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	315.563	11.211	293.009	338.116	1.000
2	370.938	11.458	347.886	393.989	1.000
3	387.500	11.283	364.802	410.198	1.000
4	394.833	9.644	375.432	414.234	1.000
5	388.604	9.365	369.765	407.444	
6	398.042	7.950	382.047	414.036	
7	401.708	9.062	383.477	419.940	

OUTPUT NANO 130

Estimates

Measure: MEASURE_1

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	324.196	13.213	297.616	350.776	.998
2	359.667	12.060	335.404	383.929	.998
3	395.875	10.199	375.358	416.392	.998
4	408.875	7.572	393.641	424.109	.998
5	400.417	8.874	382.564	418.269	
6	405.979	7.667	390.555	421.403	
7	407.188	8.415	390.258	424.117	

OUTPUT NANO ABAIXO

Estimates

Measure: MEASURE_1

profund	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	310.667	8.463	293.641	327.693	1.000
2	355.250	7.963	339.231	371.269	1.000
3	374.292	10.179	353.815	394.769	1.000
4	391.854	8.217	375.324	408.384	1.000
5	392.500	6.612	379.198	405.802	
6	397.625	7.328	382.883	412.367	
7	393.646	8.501	376.544	410.748	

ANEXO C (poder do teste para as comparações intergrupos)

MICRODUREZA LONGITUDINAL

Nano 10 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	213.490	16.863	179.001	247.979	.999
2	246.097	18.681	207.889	284.304	.999
3	328.233	11.473	304.768	351.699	.999
					.999

Nano 10 130

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	174.147	16.301	140.808	207.486	1.000
2	232.740	17.553	196.840	268.640	1.000
3	335.700	13.126	308.854	362.546	1.000
					1.000

Nano 10 abaixo

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	255.967	12.634	230.126	281.807	.964
2	281.410	13.391	254.023	308.797	.964
3	317.733	10.733	295.783	339.684	.964
					.964

Nano 20 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	277.733	11.612	253.985	301.482	.997
2	312.600	15.382	281.140	344.060	.997
3	371.567	14.314	342.292	400.842	.997
					.997

Nano 20 130

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	248.367	13.220	221.329	275.404	1.000
2	304.790	16.783	270.464	339.116	1.000
3	381.900	13.101	355.106	408.694	1.000
					1.000

Nano 20 abaixo

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	302.267	12.548	276.604	327.930	.889
2	336.733	14.078	307.941	365.525	.889
3	356.067	10.882	333.810	378.324	.889
					.889

Nano 30 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	323.267	14.900	292.793	353.740	.956
2	339.233	14.596	309.382	369.085	.956
3	382.633	13.452	355.122	410.145	.956
					.956

Nano 30 130

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	277.667	15.553	245.858	309.475	1.000
2	338.800	15.156	307.802	369.798	1.000
3	403.467	11.899	379.130	427.804	1.000
					1.000

Nano 30 abaixo

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	307.267	11.810	283.113	331.421	.953
2	352.967	12.677	327.038	378.895	.953
3	370.533	13.265	343.403	397.663	.953
					.953

Nano 50 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	343.067	13.860	314.720	371.413	.830
2	367.267	12.912	340.858	393.675	.830
3	394.233	11.120	371.490	416.977	.830
					.830

Nano 50 130

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	348.100	11.887	323.789	372.411	.989
2	371.167	13.140	344.293	398.041	.989
3	417.267	9.634	397.563	436.970	.989
					.989

Nano 50 abaixo

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	338.767	11.479	315.290	362.244	.959
2	364.400	10.481	342.964	385.836	.959
3	395.033	9.449	375.709	414.358	.959
					.959

Nano 70 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	338.300	12.919	311.878	364.722	.798
2	361.033	12.409	335.655	386.412	.798
3	392.300	11.133	369.530	415.070	.798
					.798

Nano 70 130

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	339.867	13.478	312.301	367.432	.999
2	370.533	10.423	349.216	391.850	.999
3	411.100	8.189	394.352	427.848	.999
					.999

Nano 70 abaixo

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	339.033	10.890	316.761	361.305	.982
2	357.333	11.362	334.095	380.571	.982
3	393.900	7.105	379.369	408.431	.982
					.982

Nano 90 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	347.933	10.647	326.158	369.708	.904
2	364.833	13.281	337.670	391.997	.904
3	400.233	9.457	380.891	419.576	.904
					.904

Nano 90 130

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	347.900	14.444	318.359	377.441	.925
2	375.800	11.872	351.519	400.081	.925
3	409.367	9.023	390.913	427.821	.925
					.925

Nano 90 abaixo

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	342.567	11.527	318.992	366.141	.976
2	364.967	10.393	343.710	386.224	.976
3	400.033	9.313	380.986	419.081	.976
					.976

Nano 110 30

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	338.367	11.609	314.625	362.109	.861
2	366.233	11.340	343.041	389.426	.861
3	400.367	12.109	375.600	425.133	.861
					.861

Nano 110 130

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	348.500	14.193	319.471	377.529	.958
2	369.200	11.179	346.337	392.063	.958
3	406.367	10.880	384.114	428.620	.958
					.958

Nano 110 abaixo

Estimates

Measure: MEASURE_1

nano	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
			Lower Bound	Upper Bound	
1	339.567	11.231	316.597	362.536	.890
2	363.467	12.770	337.350	389.584	.890
3	399.933	11.883	375.629	424.238	.890
					.890

MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA

Estimates

Measure: MEASURE_1

polarizada	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Observed Power(a)
	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	
1	105,528	10,329	84,995	126,061	1,000
2	47,422	6,215	35,067	59,777	1,000
3	20,231	4,232	11,817	28,644	1,000
					1,000