

CALLIANDRA MOURA PEREIRA DE LIMA

**COMPARAÇÃO ENTRE O VERNIZ FLUORETADO E O FOSFOPEPTÍDEO DE
CASEÍNA - FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO FLUORETADO E NÃO
FLUORETADO NA REMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE AO REDOR DE
BRAQUETES ORTODÔNTICOS - ESTUDO *IN VITRO***

CAMPO GRANDE

2013

CALLIANDRA MOURA PEREIRA DE LIMA

**COMPARAÇÃO ENTRE O VERNIZ FLUORETADO E O FOSFOPEPTÍDEO DE
CASEÍNA - FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO FLUORETADO E NÃO
FLUORETADO NA REMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE AO REDOR DE
BRAQUETES ORTODÔNTICOS - ESTUDO *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Zárate

CAMPO GRANDE

2013

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo e minha filhinha, pelo amor e companheirismo que me guiam em todos os desafios encontrados, pela paciência e compreensão em razão do tempo dedicado a esta pesquisa, momento em foram privados de meu convívio.

AGRADECIMENTOS

- À minha família, razão de meus esforços, pelo incentivo, paciência e amor que sempre me impulsionaram e serviram de motivação para a busca de meus ideais.

- Ao meu orientador, *Prof. Dr. Paulo Zárate* (UFMS), o qual sabe como ninguém transmitir conhecimento aos seus alunos, devido a sua dedicação em tudo que realiza.

- Ao *Prof. Dr. Adílson Luíz Ramos* (UEM), pelo empréstimo do equipamento laser, o qual foi imprescindível para a execução desta pesquisa e, principalmente, por sua amizade e generosidade, que tem me acompanhado desde o início da minha formação acadêmica.

- À *Profa. Dra. Elenir Rose Jardim Cury Pontes* (UFMS), por realizar a análise estatística deste trabalho com excelência.

- Um agradecimento especial ao *Prof. Dr. Joaquim Corsino* (UFMS), pelo companheirismo e toda transmissão de conhecimentos referentes à preparação das soluções utilizadas e manipulação destas no Laboratório de Química da UFMS. Sem sua dedicação, esta pesquisa não se concretizaria.

RESUMO

LIMA, CMP. Comparação entre o verniz fluoretado e o fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo fluoretado e não fluoretado na remineralização do esmalte ao redor de braquetes ortodônticos - Estudo *in vitro*. Campo Grande; 2013. [Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

O tratamento ortodôntico com aparelhos fixos dificulta a higiene bucal, favorecendo o acúmulo de biofilme na superfície dentária e aumentando o risco de cárie nas áreas que normalmente apresentam uma baixa prevalência da lesão. O propósito deste estudo foi comparar, *in vitro*, a capacidade do verniz fluoretado Duraphat (Colgate), do fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse (Recaldent GC) e do fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo fluoretado em mousse (Recaldent GC Plus) em remineralizar o esmalte ao redor dos braquetes ortodônticos. Para tanto, braquetes ortodônticos (Morelli) foram colados com resina composta e sistema adesivo Transbond XP (Abzil - 3M) em 100 incisivos bovinos, divididos aleatoriamente em quatro grupos iguais, o controle, e os três produtos testados. As amostras foram expostas à ciclagem DES e RE por um período de oito dias. A remineralização do esmalte foi avaliada por meio do laser *DIAGNOdent*® (KaVo) (n=100) e pela microscopia eletrônica de varredura (n=8). Foi realizada a análise estatística utilizando o teste Kruskal Wallis seguido do teste Student-Newman-Keuls. O nível de significância adotado foi de 5%. Foram encontrados resultados significantes, não somente em prevenir a desmineralização como também na remineralização da superfície do esmalte dentário ao redor dos braquetes ortodônticos, nos três grupos testados quando comparados ao controle ($p < 0,001$). Os produtos testados mostraram eficácia semelhante na remineralização do esmalte dentário, possuindo capacidades semelhantes.

Palavras-chave: desmineralização dentária, verniz fluoretado e fosfopeptídeo de caseína.

ABSTRACT

LIMA, CMP. Comparison between fluoridated varnish and casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate fluoridated and no fluoridated on enamel remineralization around orthodontic brackets - *In vitro* study. Campo Grande, 2013. [Dissertação - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

The orthodontic treatment with fixed appliances makes oral hygiene more difficult, favoring the accumulation of biofilm on the tooth surface and increasing the risk of dental caries in areas that normally have a low injury prevalence. The purpose of this study was to compare, in vitro, the capacity of the fluoridated varnish Duraphat (Colgate), the casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate fluoridated in mousse (Recaldent GC Plus) in remineralizing the tooth enamel around the orthodontic brackets. Therefore, orthodontic brackets (Morelli) were bonded with composite resin and adhesive system Transbond XP (Abzil - 3M) in 100 bovine incisors and divided randomly in four groups, the control group, and the three products tested. The four groups were exposed to the DES and RE cycling for a period of eight days. Enamel remineralization was evaluated using the laser DIAGNOdent ® (KaVo) (n = 100) and the scanning electron microscopy (n = 8). Statistical analysis was achieved using the Kruskal Wallis test followed by Student-Newman-Keuls test. The significance level adopted in the study was 5%. The results were significant not only in preventing demineralization, but also in the remineralization of the enamel surface around the orthodontic brackets considering the three groups tested when compared to control (p <0.001). The products tested demonstrated similar efficacy in remineralization of the tooth enamel.

Keywords: dental demineralization, fluoridated varnish and casein phosphopeptide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sistema adesivo, resina composta Transbond XP e seringa de ácido fosfórico em gel a 35% utilizados para a colagem dos braquetes	27
Figura 2 – a. Dente bovino recoberto com fita adesiva preparado para o ataque ácido; b. Ácido fosfórico a 35% aplicado sobre a área do esmalte onde será cimentado o braquete	28
Figura 3 – a. Polimerização após a colocação da resina na base do braquete; b. Braquete colado na superfície vestibular do esmalte após a polimerização da resina e remoção das fitas	29
Figura 4 – Dente bovino com demarcação a dois milímetros da base do braquete	29
Figura 5 – a. Verniz ácido resistente utilizado para proteção da superfície do esmalte dentário; b. face vestibular após receber o verniz; c. face lingual após receber o verniz	29
Figura 6 – a. Aparelho laser diodo DIAGNOdent®; b. Calibração do equipamento momento 1 zerando o mostrador digital; c. Equipamento calibrado para a realização das mensurações.....	30
Figura 7 – a. Mensuração, por meio do DIAGNOdent®, da perda mineral da superfície dentária com auxílio do paquímetro digital; b. Vista aproximada do procedimento de mensuração.....	31
Figura 8 – Phmetro utilizado para a análise das soluções des e remineralizante ..	32
Figura 9 – a. Aferição do pH da solução desmineralizante utilizada no experimento; b. Vista aproximada do mostrador digital do phmetro	32
Figura 10– a. Dente bovino e tampa do coletor universal perfurados; b. Vista aproximada do dente bovino com perfuração na porção apical radicular	33
Figura 11– a. Dente bovino fixado com fio de amarelo na tampa do coletor universal; b. conjunto coletor e tampa com dente bovino fixado; c. Vista aproximada do dente bovino transfixado no coletor universal ...	33
Figura 12– Produtos testados no experimento: fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse (GC Tooth Mousse); fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo com fluoreto de sódio 0,2% em mousse (GC Tooth Mousse Plus) e verniz fluoretado 5% (Duraphat®).	35
Figura 13– Dente Bovino fixado com cera pegajosa em placa de acrílico	36
Figura 14– a. Aparelho de corte de precisão ISOMET; b. Conjunto placa/dente fixado no equipamento	37
Figura 15– a. Conjunto placa/dente após a realização dos cortes; b. Vista aproximada do espécime obtido	37

Figura 16–	Bloco de dente bovino fixado em placa acrílica com cera pegajosa	37
Figura 17–	Politriz Metalográfica utilizada para planificação e polimento dos espécimes	38
Figura 18–	a. Corpo de prova fixado na tampa do coletor; b. Conjunto coletor/corpo de prova pronto para fase experimental	38
Figura 19–	Espécime fixado em <i>stub</i> com auxílio de fita dupla face e tinta condutora de prata	40
Figura 20–	Suporte do equipamento <i>Sputtering</i> com os espécimes fixados em <i>stubs</i>	40
Figura 21–	a. Equipamento <i>Sputtering</i> ; b. Espécimes inseridos no <i>Sputtering</i> recebendo o filme de ouro	41
Figura 22–	Espécimes após receber filme de ouro	41
Figura 23–	a. Espécimes inseridos no microscópio; b. Microscópio Eletrônico de Varredura	42
Figura 24–	Fotomicrografia da superfície do esmalte dentário em função dos tratamentos do tecido: a. Controle; b. Verniz Fluoretado a 5%; c. Fosfopeptídeo de caseína e fosfato de cálcio amorfo; d. Fosfopeptídeo de caseína e fosfato de cálcio amorfo fluoretado NaF 0,2%. (aumento de 5.000 x)	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CPP-ACP	Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo
CPP-ACPF	Fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo fluoretado
CLSM	Microscopia confocal laser <i>scanning</i>
CIV	Cimento de ionômero de vidro
ICDAS	Sistema Internacional de Detecção e Avaliação de cárie
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
RC	Resina composta
RGMI	Resina composta modificada com cimento de ionômero de vidro
RPM	Rotações por minuto
TRM	Microrradiografia transversal
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Ca ⁺⁺	Íon cálcio
CaF ₂	Fluoreto de cálcio
CrNi	Cromo-níquel
F ⁻	Fluoreto
KCl	Cloreto de potássio
NaF	Fluoreto de sódio
P _i	Fosfato inorgânico
L	Litro
µm	Micrômetro
µg	Micrograma
mm	Milímetro
mm ³	Milímetros cúbicos
ml	Mililitro
mmol	Milimol
mmol/L	Milimol por litro
mol/L	Mol por litro
nm	Nanômetro
ppm	Parte por milhão
DES	Desmineralizante
RE	Remineralizante
ph	Potencial de Hidrogênio Iônico

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
%	Porcentagem
<	Menor
±	Mais ou menos
“	Calibre do arco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Vernizes fluoretados	14
2.1.1	<u>Mecanismo de ação</u>	14
2.1.2	<u>Aspectos históricos</u>	14
2.2	Fosfopeptídeo de caseína- fosfato de cálcio amorfo	19
2.2.1	<u>Mecanismo de ação</u>	19
2.2.2	<u>Aspectos históricos</u>	20
3	OBJETIVOS	26
3.1	Objetivo geral	26
3.2	Objetivos específicos	26
4	MATERIAIS E MÉTODO	27
4.1	Amostra	27
4.2	Procedimentos experimentais para análise quantitativa - DIAGNOdent®	27
4.2.1	<u>Cimentação dos braquetes</u>	27
4.2.2	<u>Preparo das soluções des e remineralizante</u>	31
4.2.3	<u>Teste das soluções des e remineralizante</u>	32
4.2.4	<u>Fase experimental</u>	34
4.3	Procedimentos experimentais para análise qualitativa – MEV	36
4.3.1	<u>Corte dos dentes</u>	36
4.3.2	<u>Preparo dos espécimes</u>	38
4.4	Análise estatística	42
5	RESULTADOS	43
5.1	Mineralização do esmalte dentário	43
5.2	Análises da superfície do esmalte dentário	45
6	DISCUSSÃO	46
7	CONCLUSÕES	51
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

O tratamento ortodôntico com aparelhos fixos dificulta a higiene bucal, favorecendo o acúmulo de biofilme na superfície dentária. Dessa forma, o desafio cariogênico é aumentado em áreas que, normalmente, não ocorre o desenvolvimento de lesões cariosas. A formação da lesão de mancha branca tem sido atribuída ao efeito prolongado do acúmulo e retenção do biofilme na superfície do esmalte adjacente aos braquetes ortodônticos (SPOLIDORIO *et al.*, 2003; PUPPIN FILHO *et al.*, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2009). A presença dessas lesões, após a remoção do aparelho ortodôntico tem sido freqüente, o que preocupa os especialistas, visto o prejuízo à saúde do paciente à finalização do tratamento.

Esta preocupação é vastamente relatada na literatura, a exemplo do estudo de Richter *et al.* (2011), onde foi encontrada, em uma amostra de 350 pacientes ortodônticos, incidência de 72,9% de indivíduos que desenvolveram pelo menos uma lesão de mancha branca durante o tratamento. Os autores consideraram a incidência de lesões significativamente alta.

O principal agente etiológico dessas lesões é o biofilme. Este pode ser definido como toda população microbiana aderida a uma superfície sólida não descamativa, em presença de umidade e envolvida por uma matriz orgânica derivada de produtos extracelulares, representando uma forma estratégica de sobrevivência utilizada pelos micro-organismos. O número de espécies presentes no biofilme dentário é bastante variável, podendo-se encontrar fungos, protozoários, vírus e bactérias, sendo as últimas responsáveis pela produção de polissacarídeos extracelulares que formarão uma matriz orgânica responsável pela proteção de cada célula e pela adesividade do biofilme às superfícies duras (GIORGI *et al.*, 2001).

Segundo Marsh (1994), o biofilme forma-se naturalmente na superfície dentária, trazendo como benefício, a prevenção de colonização de espécies exógenas à flora bucal. A composição bacteriana presente neste permanece estável, apesar de regulares exposições às perturbações ambientais. Esta homeostasia é devida, em parte, pelo dinamismo e equilíbrio entre as interações sinérgicas e antagonistas da microbiota local. Entretanto, pode ser quebrada, predispondo a estrutura dentária à doença cárie.

A superfície do esmalte não é absolutamente lisa, apresentando-se com ondulações minúsculas que coincidem com as estrias incrementais de *Retzius*. Na superfície ondulada do esmalte têm-se inúmeros poros ou depressões que se comunicam com os espaços existentes entre os cristais que compõem os prismas de esmalte. À medida que os ácidos provenientes do metabolismo dos carboidratos se acumulam entre o biofilme e o esmalte, eles adentram nos poros e alcançam os espaços intercristalinos, tendo início a desmineralização dos cristais, promovendo alterações na sua forma e organização. Com o tempo, os ácidos continuam sua ação e os espaços intercristalinos aumentam seu volume no esmalte. Quando a mancha branca se estabelece, significa que os cristais na subsuperfície reduziram seu volume e os espaços ou poros intercristalinos aumentaram. Por um fenômeno óptico, o esmalte fica mais branco, denunciando clinicamente o processo de desmineralização (CONSOLARO, 2006).

Existem no mercado produtos indicados no tratamento da lesão de mancha branca por desmineralização. Entre eles, o verniz fluoretado tem sido um dos mais utilizados para o controle da cárie dentária durante as últimas décadas. A base para o desenvolvimento dos vernizes foi prolongar o tempo de contato entre o fluoreto e a superfície do dente. Verifica-se a liberação de fluoreto para o meio bucal, o que inibe a desmineralização e favorece a remineralização (SKÖLD, 2005).

Marinho *et al.* (2009) concluíram, como resultado de uma metanálise, que a aplicação do verniz fluoretado, duas a quatro vezes ao ano, tanto em dentes decíduos como permanentes, está associada a uma substancial redução do incremento de cárie, independentemente do risco ou exposição à outras fontes de fluoreto.

Em outra linha de investigação, estudos têm mostrado que componentes do leite bovino apresentam potencial cariostático. São eles os lipídeos, enzimas antibacterianas e a caseína. As fosfoproteínas do leite, especialmente a caseína, possuem a capacidade de reduzir a adsorção da enzima glicosil-transferase, produzida pelo *Streptococcus mutans*, na matriz do biofilme. Como resultado, tem-se uma menor produção de glucanos e conseqüente interferência na adesão bacteriana sobre o esmalte (VACCA-SMITH; BOWEN, 1995).

Os fosfopeptídeos de caseína (CPP) contêm sequências multifosforil, que possuem a capacidade de estabilizar os fosfatos de cálcio em nanocomplexos em solução, como fosfatos de cálcio amorfos (COCHRANE; REYNOLDS, 2012). Os

nanocomplexos fosfopeptídeos de caseína e fosfatos de cálcio amorfos (CPP-ACP) previnem a desmineralização e promovem a remineralização das lesões subsuperficiais do esmalte em profundidade (CROSS *et al.*, 2007).

Embora seja vastamente estudada, a recente revisão sistemática de Chen *et al.* (2013) mostra que ainda há certa carência de evidências sobre a eficácia de agentes remineralizantes para o tratamento de lesões de mancha branca diagnosticadas pós tratamento ortodôntico. Produtos fluoretados e o CPP-ACP e CPP-ACPF foram citados nesta revisão.

Tampouco, são escassos os estudos que comparam a comprovada ação do verniz fluoretado NaF 5% sobre o esmalte desmineralizado com a ação cariostática do CPP-ACP, especialmente no tecido circundante a braquetes ortodônticos. Assim sendo, a proposta deste estudo é comparar esses dois agentes quanto à capacidade de remineralização de manchas brancas.

O resultado desta investigação experimental poderá dar suporte a futuros estudos clínicos, e assim, colaborar com a manutenção da integridade do esmalte dentário durante o tratamento ortodôntico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Vernizes fluoretados

2.1.1 Mecanismo de ação

Apesar de formar certa quantidade de apatita fluoretada no processo de mineralização, o mecanismo pelo qual o fluoreto confere maior resistência ao esmalte dentário ocorre na superfície dessa estrutura, ao longo de toda a vida, através de sucessivos episódios de desmineralização e remineralização superficial, desencadeados pela queda de pH decorrentes da produção de ácidos a partir da metabolização dos carboidratos. A presença contínua, ao longo de toda a vida do indivíduo, de pequenas quantidades de fluoreto no meio bucal é, portanto, indispensável para que o efeito preventivo se manifeste, com a formação de fluoreto de cálcio na etapa de remineralização (CURY, 1996). Admite-se que essa nova superfície contendo fluoreto é muito menos solúvel em ácidos que a superfície de esmalte original (FEATHERSTONE, 1999).

Os vernizes fluoretados são produtos com alta concentração de fluoreto (7.000 ou 22.600 ppm, dependendo do produto), desenvolvidos com a finalidade de prolongar o contato deste com o esmalte dentário. Ficam aderidos à superfície dentária por várias horas após a aplicação (NARVAI, 2000).

2.1.2 Aspectos históricos

O verniz fluoretado tem sido comumente usado para a prevenção da cárie dentária durante as últimas décadas. Inúmeras pesquisas foram realizadas neste período (SKÖLD, 2005).

Em 1996, Ogaard *et al.* avaliaram o efeito do verniz fluoretado a 5% (Duraphat, Colgate, São Paulo, Brasil) no controle da desmineralização dentária em pacientes ortodônticos. Bandas ortodônticas foram cimentadas em dez pares de pré-molares de sete pacientes com idades entre 11-13 anos, sendo que em um dente foi realizada a aplicação do verniz ao redor da banda, enquanto o pré-molar contralateral serviu como controle. Os dentes em estudo foram extraídos após

quatro semanas e analisados por meio da microrradiografia transversal (TRM) e da microscopia confocal laser *scanning* (CLSM). Constataram uma redução de 48% da profundidade de lesão no grupo que recebeu o verniz fluoretado comparado ao controle ($p < 0,05$). Concluíram que o verniz fluoretado mostrou-se eficaz no controle da desmineralização ao redor de bandas ortodônticas.

Todd *et al.* (1999) analisaram, *in vitro*, a desmineralização adjacente aos braquetes ortodônticos colados em caninos e pré-molares humanos extraídos e distribuídos igualmente em três grupos: grupo 1, que não recebeu tratamento adicional antes de serem colocados numa solução cariogênica artificial; grupo 2, tratamento com placebo não fluoretado; e grupo 3, em que foi aplicado o verniz fluoretado Duraflor (Pharmascience Inc., Montreal, Quebec, Canadá). Os três grupos foram expostos a um processo de cárie artificial por uma hora, duas vezes ao dia, por 37 dias, e foram escovados com escova de dentes duas vezes ao dia. A desmineralização do esmalte foi avaliada em seções longitudinais e gengivo-oclusais, utilizando microscopia de luz polarizada. Observaram que os dentes tratados com verniz fluoretado Duraflor apresentaram 50% menos desmineralização quando comparados aos grupos controle e placebo ($p < 0,01$).

No ano de 2001, Ogaard *et al.* realizaram um estudo clínico prospectivo e aleatório com 220 pacientes ortodônticos, os quais foram divididos em três grupos: grupo 1- que recebeu associação dos verniz fluoretado a 0,1% (Fluor Protector, Ivoclar Vivadent, Canadá) e de clorexidina a 1% e timol a 1% (Cervitec, Ivoclar Vivadent, Canadá) ao redor dos braquetes; grupo 2- nos qual foi aplicado apenas o verniz fluoretado; e grupo 3- o controle, em que nenhum produto foi aplicado. O efeito do verniz de clorexidina e timol sobre a gengivite e formação de placa bacteriana também foi estudado. A associação dos vernizes (grupo 1) reduziu significativamente a contagem de *Streptococcus mutans* presentes na placa bacteriana durante as primeiras quarenta e oito semanas de tratamento. Porém, não houve diferenças significativas com relação a redução de lesões de mancha branca preexistentes comparado ao grupo em que foi aplicado apenas o verniz fluoretado ($p > 0,05$). Entretanto, a combinação dos vernizes mostrou-se superior na prevenção de novas lesões ($p < 0,05$).

Em 2002, Schmit *et al.* mostraram, por meio de um estudo *in vitro*, o efeito da aplicação do verniz fluoretado (Duraflor, Pharmascience, Montreal, Québec, Canadá) ao redor de braquetes ortodônticos na prevenção da desmineralização

dentária. Quarenta e oito terceiros molares humanos foram distribuídos em dois grupos (n=24), os quais receberam braquetes colados com resina composta (RC) modificada com cimento de ionômero de vidro (RMGI) (Fuji Ortho LC, GC America, Alsip, Ill) no primeiro grupo e, no segundo, foram fixados com resina composta (RC) (Transbond, 3M Unitek, Monrovia, Calif). Cada grupo foi subdividido em dois (n=12): em metade foi aplicado o verniz fluoretado ao redor dos braquetes. Os dentes foram ciclados em solução de cárie artificial por um período de uma hora duas vezes ao dia por 35 dias. Entre os ciclos, eram escovados para simular a remoção mecânica clínica do verniz. Finalizada a ciclagem, foram seccionados longitudinalmente e submetidos à microscopia de luz polarizada. A profundidade média da lesão foi mensurada e a análise de variância (ANOVA) ($p < 0,001$) e o teste de Duncan ($p < 0,05$) indicaram diferenças significantes entre os grupos. Os dentes colados com RC e que receberam o verniz fluoretado ao redor dos braquetes mostraram uma redução 35% na profundidade de lesão quando comparados ao controle. Já no grupo em que os braquetes foram fixados com RMGI, não houve diferença entre os subgrupos. Em ambos houve uma profundidade média de lesão 50% menor quando comparados ao grupo de RC que não recebeu aplicação do verniz fluoretado. Ainda que o verniz fluoretado não preveniu totalmente a desmineralização dentária, pareceu ser benéfico na redução da formação da lesão.

Demito *et al.* (2004) avaliaram, *in vitro*, a capacidade do verniz fluoretado Duraflor (Pharmascience, Montreal, Quebec, Canadá) em inibir a desmineralização do esmalte ao redor dos braquetes ortodônticos. Quarenta incisivos bovinos foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos iguais. Em cada dente foi aplicado uma fita adesiva colorida com um quadrado cortado do tamanho da base do braquete, previamente ao ataque ácido, para prevenir que a superfície do esmalte adjacente pudesse prematuramente sofrer a desmineralização. Após os procedimentos de ataque ácido (ácido fosfórico a 35%), o adesivo foi aplicado (Concise 3M, Glendora, Califórnia, EUA) uniformemente sobre o esmalte. Foram colados os braquetes ortodônticos (Morelli, Sorocaba, São Paulo, Brasil) na superfície vestibular de todos os dentes com resina composta (Concise 3M, Glendora, Califórnia, EUA). Após a colagem de todos os braquetes, foram removidas as fitas sobre o esmalte, e em seguida, os dentes foram limpos com metanol para retirar eventuais remanescentes do adesivo da fita. Todos os dentes foram pintados com uma fina camada de verniz ácido resistente (esmalte Colorama Maybelline, New York, USA), cobrindo todas as

superfícies dos dentes, exceto ao redor do braquete. Dois grupos foram então compostos: grupo 1 (n=20), que não recebeu tratamento adicional antes de ser submetido a um processo de cárie artificial; e grupo 2 (n=20), que recebeu aplicação do verniz fluoretado Duraflor. Os dentes foram ciclados entre saliva artificial e solução de cárie artificial, seguindo este protocolo por 35 dias, sendo que no 15º dia do experimento, o verniz foi reaplicado no grupo experimental. As análises foram realizadas por microscopia de luz polarizada, sendo as profundidades de cada lesão tomadas em μm , utilizando o programa para análise de imagens Image Pro-Plus (V. 4. 5. 1 Media Cybernetics). Dentro de uma área de 500 μm foram tomadas três profundidades (L1; L2; L3) utilizando um *template* colado na tela do computador. O teste *t* de *Student* revelou diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,01$) tanto na profundidade média, quanto máxima das lesões. O grupo 2 exibiu aproximadamente 40% menos desmineralização que o grupo 1. Concluíram, os autores, que os vernizes fluoretados devem ser considerados como método preventivo para redução da desmineralização adjacente aos braquetes ortodônticos, particularmente em pacientes com pobre cooperação quanto à higiene bucal e bochechos fluoretados.

Em 2005, Hu e Featherstone compararam a eficácia do verniz fluoretado a 5% CavityShield™ (3M Espe, Omnii Pharmaceuticals, West Palm Beach, Fla) com a resina sealer (Pro Seal, Reliance Orthodontic Products, Itasca, Ill) na prevenção da desmineralização do esmalte dentário. Para este estudo *in vitro*, cinquenta terceiros molares humanos foram selecionados e subdivididos aleatoriamente em cinco grupos (n=10): o grupo 1, o controle em que não foi aplicado produto algum ; grupo 2, que recebeu ataque ácido (ácido fosfórico gel a 37%) por 30 segundos e lavado abundantemente por 60 segundos; grupo 3, no qual foi aplicado o verniz fluoretado a 5% CavityShield™; grupo 4, em que foi submetido ao ataque ácido e aplicado o selante fotopolimerizável (Light Bond Sealant, Reliance Orthodontic Products, Itasca, Ill); e grupo 5, o qual também foi submetido ao ataque ácido, e posteriormente, aplicado resina sealer. Todos os espécimes foram submetidos a ciclagem des e re por um período de 14 dias, sendo expostos diariamente por seis horas em solução desmineralizante e 17 horas em solução remineralizante. Posteriormente, foram seccionados e analisados por teste de microdureza. A desmineralização do grupo Pro Seal (grupo 5) foi significativamente menor ($p < 0,05$) em comparação aos demais grupos. Dentes tratados com o verniz fluoretado (grupo 3) mostraram 30% de desmineralização menor que o grupo controle, o grupo 2 e 4 ($p < 0,05$).

Concluíram que tanto o Pro Seal quanto o CavityShield™ podem ser considerados eficazes na prevenção da desmineralização do esmalte dentário, particularmente em pacientes com higiene bucal deficiente. Porém, o Pro Seal mostrou-se com potencial superior ao CavityShield™.

Farhadian *et al.* (2008) avaliaram, *in vivo*, o efeito do verniz fluoretado Bifluride (12,6% fluoreto de cálcio e 6% fluoreto de sódio) (Voco, Cuxhaven, Alemanha) na desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos. Foram selecionados quinze pacientes que necessitavam de tratamento ortodôntico com extração de, no mínimo, dois pré-molares. Em cada paciente, um pré-molar serviu como controle e o outro recebeu aplicação do fluoreto. Os pré-molares foram extraídos após 85 a 95 dias e secções vestibulo-linguais foram realizadas para a análise de microscopia de luz polarizada. A profundidade média da lesão foi de $57,0 \pm 5,5$ μm no grupo teste e de $94,3 \pm 6,7$ μm no grupo controle. Houve redução estatisticamente significativa na profundidade da lesão no grupo que recebeu o verniz fluoretado, de aproximadamente 40% ($p < 0,001$).

No ano de 2011, Demito *et al.* analisaram, *in vivo*, o verniz fluoretado Duraphat® (Colgate-Palmolive, Alemanha) quanto a prevenção da desmineralização do esmalte ao redor de braquetes ortodônticos, mediante o monitoramento a laser (DIAGNOdent®) (KaVo, Biberach, Alemanha). Quinze pacientes tiveram braquetes ortodônticos colados (Abzil 3M, São Paulo, Brasil) com resina composta Transbond XP (3M Unitek, Monrovia, USA) e, utilizando-se o modelo *crossover*, foi aplicado verniz fluoretado Duraphat® ao redor dos braquetes em duas hemiarquadas cruzadas, sendo que as demais serviram como controle. As aplicações de verniz e as leituras foram repetidas trimestralmente. A amostra foi composta por 278 dentes, sendo que metade recebeu aplicação de verniz. Os resultados mostraram que, apesar de não significativa estatisticamente, houve uma tendência de redução de cerca de 32% na desmineralização adjacente aos braquetes ortodônticos, quando considerou-se a média das leituras gengival, mesial, distal e oclusal no grupo que recebeu aplicação de verniz fluoretado. Entretanto, houve 40% menos progressão das lesões de mancha branca na subface gengival do braquete ($p < 0,05$).

Em 2013, Nalbantgil *et al.* avaliaram, *in vitro*, o efeito de dois vernizes fluoretados, o DurafloTM (Medicom, Montreal, Canadá) e o Pro[®] Varnish (Premier Dental, PA, EUA) na prevenção da desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos. Para isso, setenta e dois pré-molares humanos receberam braquetes

colados com resina composta Transbond XP (3M Unitek, Monrovia, EUA) e foram aleatoriamente distribuídos em três grupos (n=24 cada): o primeiro não recebeu produto algum (controle) e nos demais, foi aplicado ao redor dos braquetes os vernizes analisados. Todos os espécimes foram submersos individualmente em solução desmineralizante por 96 horas em temperatura constante de 37 °C. A desmineralização do esmalte foi avaliada por meio de teste de microdureza. Mensurações foram feitas na linha da base do braquete 0, 100 e 200 µm da base em cinco profundidades (10, 20, 40, 70 e 90 µm). Constataram uma menor desmineralização significativa nos grupos testados ao comparar com o controle ($p < 0,001$), em todas as profundidades analisadas, havendo um decréscimo dos valores de microdureza proporcional ao aumento da profundidade. Não houve diferença significativa entre os produtos testados ($p < 0,05$) (Teste Kruskal Wallis). Os autores concluíram que o Duraflor™ e o Pro® Varnish podem ser considerados efetivos para reduzir a desmineralização ao redor de braquetes durante o tratamento ortodôntico, especialmente em pacientes com higienização bucal deficiente.

2.2 Fosfopeptídeo de caseína – fosfato de cálcio amorfo

2.2.1 Mecanismo de ação

O mecanismo anticariogênico proposto para os nanocomplexos fosfopeptídeos de caseína (CPP) e fosfatos de cálcio amorfos é baseado na localização dos fosfatos de cálcio amorfos na superfície dentária, o que neutraliza as atividades dos íons cálcio e fosfato livres, favorecendo a manutenção de um estado de supersaturação em relação ao esmalte dentário, diminuindo a desmineralização e aumentando a remineralização (REYNOLDS, 1999; OSHIRO *et al.*, 2007).

A caseína pode ser incorporada a uma série de produtos para higiene bucal como pastilhas, dentifrício, mousse ou soluções para bochechos (CROSS *et al.*, 2007).

Tanto em produtos para higiene bucal quanto em gomas de mascar, o CPP apresenta ação anticariogênica. Após três horas do uso de goma de mascar de xilitol contendo CPP, ainda foi possível se detectar a presença do peptídeo na superfície dos dentes. O uso de enxagüatório bucal contendo CPP eleva o nível de cálcio e

fosfato na região bucal, favorecendo a remineralização. E ainda, há a indicação para o tratamento da hipersensibilidade dentária (YAMAGUCHI *et al.*, 2006).

2.2.2 Aspectos históricos

O termo caseinofosfopeptídeo ou fosfopeptídeo de caseína (CPP) foi introduzido na década de 50 para descrever peptídeos fosforilados derivados da caseína que apresentavam a propriedade de melhorar a calcificação de crianças portadoras de raquitismo. Essa influência de peptídeos no metabolismo mineral foi observada após incubação de caseína com pepsina e suco pancreático, o que permitia a obtenção de uma fração peptídica resistente à degradação posterior por outras enzimas (SCHOLZ-AHRENS; SCHREZENMEIR, 2000).

Embora os fosfopeptídeos de caseína tenham sido descobertos a mais de 50 anos, ainda não estão completamente caracterizados em relação ao potencial para a indústria alimentícia e de produtos farmacêuticos. Algumas aplicações incluem a suplementação mineral, a atividade antioxidante, a modulação do sistema imunológico e o efeito anticariogênico (KRÜGER; CÂNDIDO, 2009).

A capacidade dos nanocomplexos fosfopeptídeos de caseína e fosfatos de cálcio amorfos adicionados às gomas de mascar sem açúcar – com a característica de aumento da capacidade tampão da saliva devido ao aumento do fluxo salivar e consequente redução do acúmulo de placa - em remineralizar as lesões sob a superfície do esmalte, foi demonstrada por Cai *et al.* (2003) num modelo *in situ*. Os autores observaram que 18,8 mg e 56,4 mg de nanocomplexos fosfopeptídeos de caseína e fosfatos de cálcio amorfos numa pastilha elástica sem açúcar, induziram a remineralização das lesões da sub-superfície do esmalte *in situ*, aproximadamente 78% e 176% ($p < 0,001$), respectivamente, quando comparados com as pastilhas elásticas sem açúcar, que não continham os nanocomplexos fosfopeptídeos de caseína e fosfatos de cálcio amorfos.

Andersson *et al.* (2007) compararam o efeito de um dentifrício composto de fosfopeptídeo de caseína com um enxaguatório bucal contendo 0,05% de fluoreto de sódio na regressão de lesões de mancha branca, após a remoção de aparelho ortodôntico fixo, em 26 adolescentes. O grupo A (n=13) utilizou diariamente o dentifrício à base de fosfopeptídeo de caseína por três meses consecutivos, seguido de uso diário de dentifrício fluoretado por mais três meses consecutivos. O grupo B

utilizou diariamente a associação de dentifrício fluoretado e enxaguatório bucal fluoretado por seis meses consecutivos. Os pacientes foram avaliados clinicamente nos meses 1, 3, 6 e 12, por meio do laserfluorescência. Em ambos os grupos, houve uma redução significativa ($p < 0,001$) das lesões de mancha branca, porém, na avaliação clínica do 12º mês, o grupo que utilizou o dentifrício mostrou-se com menor número de lesões, com 63% de redução destas no grupo A e 26% no grupo B.

No mesmo ano, Sudjalim *et al.* avaliaram, *in vitro*, o efeito do fluoreto de sódio (Colgate Neutrafluor 9000 ppm) e do fosfopeptídeo de caseína – fosfato de cálcio amorfo a 10% (GC Tooth Mousse™) na prevenção da desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos. Quarenta espécimes foram seccionados de superfícies bucais ou linguais de terceiros molares. Em vinte espécimes, tubos foram colados com resina composta (Transbond XT, 3M, St Paul, Minn) (RC) e nos outros vinte, com cimento de ionômero de vidro (Fuji Ortho LC, GC America, Alsip, Ill) (CIV). Uma janela de dois mm ao redor dos tubos foi preparada para a desmineralização. A amostra foi dividida em quatro grupos: controle, caseína (TM), caseína fluoretada (TM/NaF) e fluoreto de sódio (NaF). Foram feitas aplicações ao redor dos tubos e os espécimes imergidos em solução de carbopol a 37 °C. Foram expostos à solução desmineralizante por 96 horas, com troca da solução a cada quatro horas. Imagens foram obtidas por meio da luz fluorescente induzida. Todos os grupos testados apresentaram redução significativa na desmineralização ao redor dos braquetes ortodônticos comparado ao controle ($p < 0,01$). Já com relação aos materiais de colagem, a redução na desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos não se mostrou estatisticamente significativa com o uso do CIV quando comparado ao uso da RC ($p = 0,29$ e $p = 0,34$, respectivamente). A aplicação do TM/NaF no grupo em que os braquetes foram colados com CIV reduziu significativamente a desmineralização comparada ao controle (braquetes colados com CIV) ($p=0,008$ e $p=0,019$, respectivamente). O fluoreto, a caseína e a caseína fluoretada mostraram serem agentes eficazes na prevenção da desmineralização dentária quando comparados ao controle.

Já em 2008, Kumar *et al.* avaliaram, *in vitro*, o efeito do fosfopeptídeo de caseína (CPP-ACP) na remineralização de lesões cáries artificiais. Deixaram dentes permanentes em solução cariogênica por 96 horas. Os dentes foram seccionados em 100-150 µm e distribuídos aleatoriamente em cinco grupos: grupo

A, em que foi utilizado o dentifrício fluoretado (1100 ppm) (Colgate Total, Bangkok, Tailândia) como controle positivo; e, no grupo B, um dentifrício não fluoretado (Vicco Laboratories, Goa, Índia) foi aplicado como controle negativo. O CPP-ACP (Tooth Mousse, GC Corp, Tokyo, Japan) foi aplicado de três formas: como dentifrício (grupo C), como aplicação tópica (grupo D) e como aplicação tópica após o uso de dentifrício fluoretado (grupo E). As profundidades das lesões reduziram significativamente em 7% no grupo A; 10,1% nos grupos C e D; 13,1% no Grupo E, enquanto no grupo B houve aumento de 23%. O CPP-ACP mousse mostrou-se com um maior potencial de remineralização quando associado ao dentifrício fluoretado ($p < 0,05$).

Behnan *et al.* (2010) compararam, *in vitro*, vários tratamentos de prevenção da desmineralização e da formação de lesões de cárie incipientes ao redor de braquetes ortodônticos. Cem pré-molares humanos foram aleatoriamente divididos em cinco grupos ($n=20$). No grupo 1, braquetes foram colados utilizando-se um sistema adesivo contendo fosfato de cálcio amorfo (ACP) (Aegis-Ortho, Bosworth, Skokie, Ill); o grupo 2 com resina Transbond XT (3M Unitek, Monrovia, Calif) (controle), enquanto nos demais grupos (3, 4 e 5) os braquetes foram colados com resina Transbond XT seguida de aplicação, ao redor destes, de verniz fluoretado (Vanish, 3M, St Paul, Minn), resina sealer (Pro-seal, Reliance Orthodontic Products, Itasca, Ill) e dentifrício contendo o fosfopeptídeo de caseína (MI Paste), respectivamente. Os grupos foram ciclados durante 15 dias em solução desmineralizante (ácido láctico e carbopol [$ph=5,0$], 50% saturado com hidroxiapatita) por oito horas diárias, enxaguados com água deionizada e colocados em saliva artificial por 30 minutos, escovados (Sonicare, Philips) com dentifrício fluoretado (NaF, 1.100 ppm F) e depositados em saliva artificial até o próximo período de desmineralização. A extensão da desmineralização em cada grupo foi verificada por meio da luz fluorescente e da microscopia eletrônica de varredura. Apenas os grupos que receberam aplicação do pro-seal e do verniz fluoretado não apresentaram perda de mineral quanto à profundidade de lesão ($0 \mu m$) (Kruskal-Wallis $p < 0,01$) quando comparados aos demais grupos testados (grupo1= $15,9 \pm 7,4$; grupo 2= $32,9 \pm 19,3$; grupo 5= $16,4 \pm 15,8$ ($p > 0,05$)) em ambos os testes. Os autores concluíram que tanto o verniz fluoretado Vanish quanto a resina Pro-Seal, aplicados ao redor dos braquetes ortodônticos, puderam prevenir a desmineralização. Ainda com relação a esta, observaram efeitos positivos com a utilização do sistema

adesivo contendo fosfato de cálcio amorfo (Aegis-Ortho) e do dentifrício contendo o fosfopeptídeo de caseína (MI Paste) comparados ao controle, porém, com valores estatisticamente não significantes.

Ainda em 2010, Uysal *et al.* avaliaram, *in vivo* e *in vitro*, o efeito do fosfopeptídeo de caseína- fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP Tooth Mousse[®]; GC-Corp, Tokyo, Japan) e do gel fluoretado (Fluoridin N5[®]; Voco-GmbH, Cuxhaven, Germany) como agentes tópicos no controle da desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos. Vinte e um pacientes, em tratamento ortodôntico, com extração indicada de seus pré-molares, e sessenta pré-molares extraídos, foram selecionados e divididos em três grupos: grupo 1 – controle; grupo 2, que recebeu ao redor dos braquetes o Tooth Mousse[®]; e o grupo 3, no qual foi aplicado o Fluoridin N5[®] ao redor dos braquetes ortodônticos. Após sessenta dias, sessenta pré-molares foram extraídos dos pacientes submetidos a pesquisa e os efeitos *in vivo* dos produtos aplicados foram avaliados. Para o experimento *in vitro*, a amostra foi ciclada em solução des e remineralizante diariamente por um período de 14 dias. Todos os dentes (teste *in vivo* e *in vitro*) foram seccionados e analisados sua microdureza superficial. Os grupos dois e três mostraram-se com maior microdureza superficial quando comparados com o grupo controle ($p < 0,001$). Não houve diferença significativa entre o grupo que recebeu o Tooth Mousse[®] e o grupo no qual foi aplicado o Fluoridin N5[®] com relação ao controle. Concluíram que os produtos analisados inibiram de forma eficaz a desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos.

Em 2011, Jayrajan *et al.* compararam, em estudo *in vitro*, o efeito do CPP- ACP com o CPP- ACP fluoretado na remineralização de lesões cáries artificialmente formadas. Noventa pré-molares de maxila foram distribuídos em três grupos. O grupo A recebeu apenas saliva artificial; no grupo B utilizaram o CPP- ACP; e no grupo C o CPP- ACP fluoretado. Nos grupos experimentais (B e C), os produtos foram aplicados por quatro minutos. Os dentes foram avaliados por meio do laser fluorescência (DIAGNOdent, Kavo, Alemanha), previamente e após a desmineralização e após a remineralização. Os dentes foram avaliados por meio da microscopia eletrônica e pelo laser fluorescência. Os grupos B e C mostraram menor perda mineral, ou seja, houve um controle melhor da desmineralização ($4,1 \pm 1,8$ e $4,8 \pm 1,2$, respectivamente) quando comparado com os grupos A ($1,7 \pm 0,7$) ($p < 0,05$).

Neste mesmo ano, Mayne *et al.* avaliaram, *in vitro*, o efeito do CPP-ACFP a 1% na prevenção da desmineralização ao redor de braquetes ortodônticos. Braquetes metálicos de incisivos inferiores foram colados em terceiros molares, sendo divididos em quatro grupos: A (controle n=5); B, C e D (experimentais com n=20 cada). Uma camada de verniz ácido-resistente foi aplicada na superfície vestibular de cada dente, deixando uma janela de 1 mm ao redor do braquete, onde a solução de fosfopeptídeo de caseína foi aplicada nos grupos experimentais. Os mesmos foram expostos a solução cariogênica por 4, 12 e 30 dias, respectivamente. Os braquetes e o adesivo residual foram removidos e o dano no esmalte dentário (profundidade da lesão, perda mineral e remineralização) foi avaliado através da microscopia eletrônica. Constataram uma redução significativa ($p < 0,002$) na desmineralização do esmalte nos grupos B, C e D quando comparado ao grupo controle.

Ainda em 2011, Robertson *et al.* realizaram um ensaio aleatório controlado objetivando determinar a efetividade do dentifrício MI Paste Plus (GC America, Alsip, Ill) na prevenção ou redução de lesões de mancha branca em pacientes ortodônticos. Sessenta pacientes ortodônticos foram selecionados e com o método duplo-cego de aleatorização foi determinado quais os pacientes receberiam o produto testado e quais fariam parte do controle (dentifrício placebo) (Tom's of Maine, Salisbury, United Kingdom). Os pacientes foram instruídos a utilizar os dentifrícios por três a cinco minutos diariamente, após a última escovação noturna. Registros fotográficos obtidos em luz ambiente foram utilizados para verificar a presença ou ausência de lesões de mancha branca em ambos os grupos. O índice de descalcificação de esmalte (BANKS; RICHMOND, 1994¹) foi utilizado para determinar o número de lesões por superfície em cada intervalo de tempo. A cada quatro semanas, durante o período de três meses, os pacientes foram examinados. Para avaliação do nível de perda mineral e/ou cavitações, foi utilizado o ICDAS (Sistema Internacional de Detecção e Avaliação de Cárie) (ISMAIL, 2007²). Cinquenta pacientes (26 do grupo teste e 24 do controle) completaram o estudo. O score de descalcificação de esmalte para todas as superfícies foi de 271 e 135 na primeira mensuração e de 126 e 258 na última, para o grupo teste e grupo controle,

¹ Banks PA, Richmond S. Enamel sealants: A clinical evaluation of their value during fixed appliance therapy. *Eur J Orthod* 1994; 16:19-25.

² Ismail AI *et al.* The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2007; 35(3):170-8.

respectivamente. Houve uma redução de 53,5% no grupo MI paste Plus, enquanto no grupo placebo, um aumento de 91,1% foi percebido ($p < 0,05$). Os autores concluíram que o dentifrício analisado preveniu o aparecimento de novas lesões de mancha branca e reduziu o número de lesões já presentes.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Comparar o fosfopeptídeo de caseína a 10%, o fosfopeptídeo de caseína a 10% fluoretada 0,2% ao verniz à base de fluoreto de sódio a 5%, quanto à remineralização do esmalte ao redor de braquetes ortodônticos.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar, quantitativamente, a remineralização do esmalte submetido ao desafio cariogênico, localizado ao redor dos braquetes ortodônticos, tratado previamente com o fosfopeptídeo de caseína (CPP-ACP 10%), fosfopeptídeo de caseína fluoretado (CPP-ACP 10%/NaF 0,2%) ou verniz fluoretado (NaF 5%);
- Avaliar, qualitativamente, as superfícies do esmalte submetidas a esses mesmos tratamentos.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Amostra

A amostra foi constituída de 116 dentes incisivos, provenientes de bovinos da raça nelore, com idade média de 36 meses, sendo oito dentes utilizados para o teste das soluções, 100 dentes para análise quantitativa e oito para análise qualitativa. Após a extração, os mesmos foram estocados em solução aquosa de timol 0,1%, até o momento da desinfecção com digluconato de clorexidina 0,12%. A limpeza do esmalte foi realizada por meio de profilaxia profissional com pedra pomes e água durante 10 segundos. Para remoção de possíveis remanescentes aderidos ao esmalte, foi aplicado ultrassom. Após estes procedimentos, os dentes foram enxaguados com água deionizada e distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (TODD *et al.*, 1999).

4.2 Procedimentos experimentais para análise quantitativa - DIAGNOdent®

4.2.1 Cimentação dos braquetes

Os braquetes ortodônticos de incisivos inferiores (Morelli, Sorocaba-SP, Brasil) foram cimentados com resina composta e sistema adesivo Transbond XP (3M Unitek, Monrovia, USA) (Figura 1) no centro da face vestibular dos incisivos.

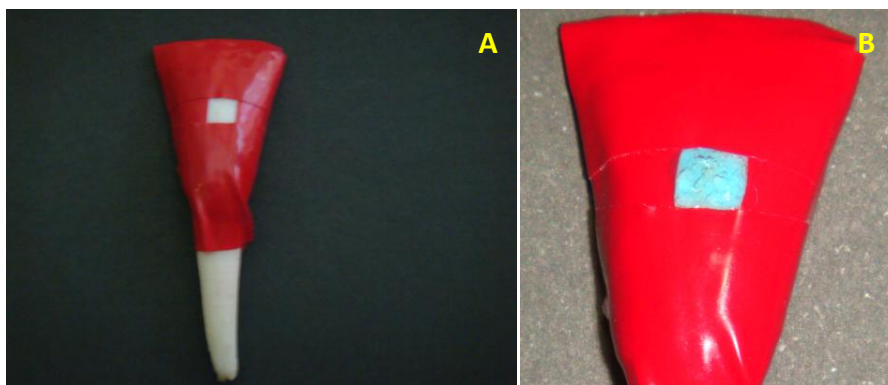
Figura 1 – Sistema adesivo, resina composta Transbond XT, e seringa de ácido fosfórico em gel a 35% utilizados para a colagem dos braquetes.



Fonte: Própria

Em cada dente foi aplicada uma fita adesiva (3M, Sumaré, Brasil) colorida com um quadrado cortado do tamanho da base do braquete, antes do ataque ácido, para prevenir que a superfície do esmalte adjacente pudesse, prematuramente, sofrer a desmineralização (Figura 2a). O ataque ácido foi realizado com ácido fosfórico gel a 37% (Condac 37 FGM, Joinville, Brasil) por 30 segundos e lavados com água deionizada pelo mesmo tempo e secos com jato de ar (Figura 2b). Em seguida, foi realizada a aplicação do adesivo (Transbond XT-3M Unitek, Monrovia, EUA) uniformemente sobre o esmalte, inserida a resina composta (Transbond XT-3M Unitek, Monrovia, USA) nas bases dos braquetes e estes foram posicionados com firme pressão sobre o esmalte dentário, retirando-se o excesso de resina previamente a polimerização de vinte segundos, conforme as recomendações do fabricante (Figura 3a). Para a polimerização, foi utilizado um fotopolimerizador LED Wireless (BD 686-Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil). Após a colagem de todos os braquetes, as fitas foram removidas (Figura 3b).

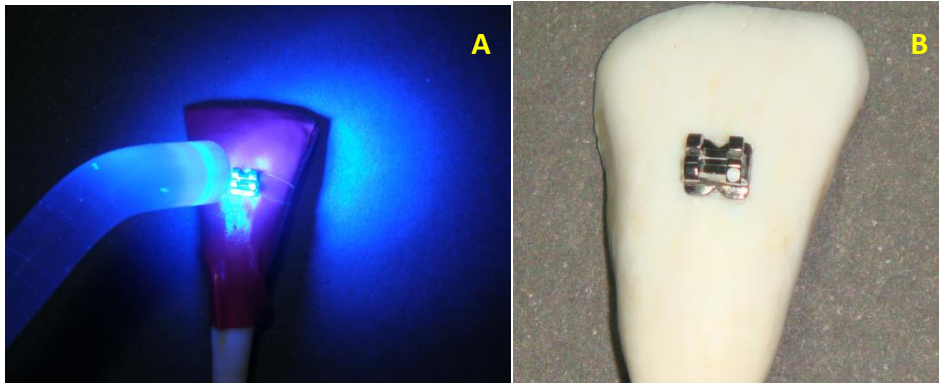
Figuras 2 – **a.** Dente bovino recoberto com fita adesiva preparado para o ataque ácido; **b.** Ácido fosfórico a 35% aplicado sobre a área do esmalte onde será cimentado o braquete.



Fonte: Própria

Em seguida, os dentes foram demarcados com um lápis grafite HB, ao redor do braquete, a dois milímetros, pelas faces incisal, cervical, mesial e distal (Figura 4). Posteriormente, foram pintados com uma fina camada de verniz ácido resistente (Colorama, Brasil), cobrindo todas as superfícies dos dentes, exceto a dois milímetros da área previamente demarcada (TODD *et al.*, 1999) (Figura 5).

Figura 3 – **a.** Polimerização após a colocação da resina na base do braquete; **b.** Braquete colado na superfície vestibular do esmalte após a polimerização da resina e remoção das fitas.



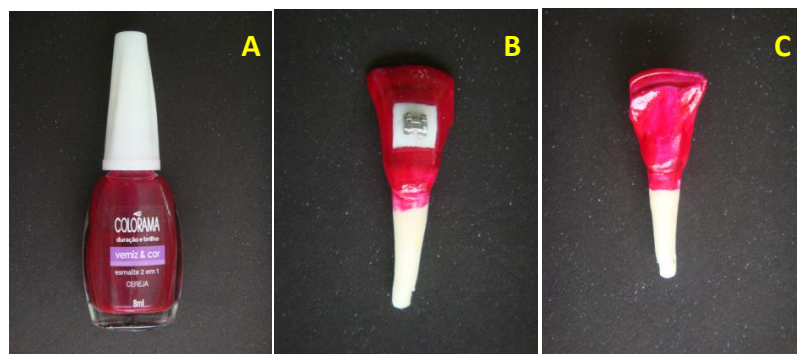
Fonte: Própria

Figura 4 – Dente bovino com demarcação a dois milímetros da base do braquete.



Fonte: Própria

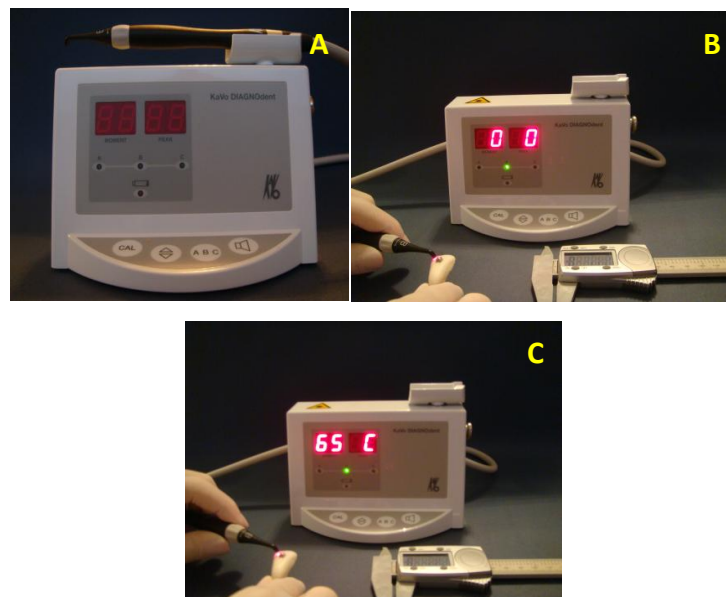
Figura 5 – **a.** Verniz ácido resistente utilizado para proteção da superfície do esmalte dentário; **b.** face vestibular após receber o verniz; **c.** face lingual após receber o verniz.



Fonte: Própria

A estrutura mineral ao redor dos braquetes foram avaliados por meio à leitura das superfícies utilizando-se o equipamento DIAGNOdent® (KaVo, Alemanha) (Figura 6a), a fim de se verificar, quantitativamente, o grau de mineralização do tecido. A superfície vestibular do dente foi dividida em mesial, distal, cervical e oclusal e as quatro medidas foram anotadas em uma ficha individual. Foi escolhido para a leitura, o ponto mais central de cada subface, por meio do uso de um paquímetro digital com resolução de 0,01 / 0,0005 mm (Vonder, China). Antes da tomada de leitura, o aparelho foi calibrado, posicionando o feixe de laser sobre uma área saudável de esmalte, zerando o mostrador digital do equipamento (Figura 6b). Ao aparecer no mostrador 65 C (Figura 6c), o equipamento emitiu um aviso sonoro demonstrando a aptidão deste para o início da mensuração. Nova leitura foi realizada com intervalo de uma semana, a fim de se proceder a calibração intra-examinador (DEMITO *et al.*, 2011) (Figuras 7). De acordo com o fabricante, valores de 0 a 10, traduzem tecido sadio; de 11 a 20, lesão de cárie superficial em esmalte; de 21 a 30, lesão de cárie profunda em esmalte; e valores superiores a 30, refere-se a lesão de dentina³.

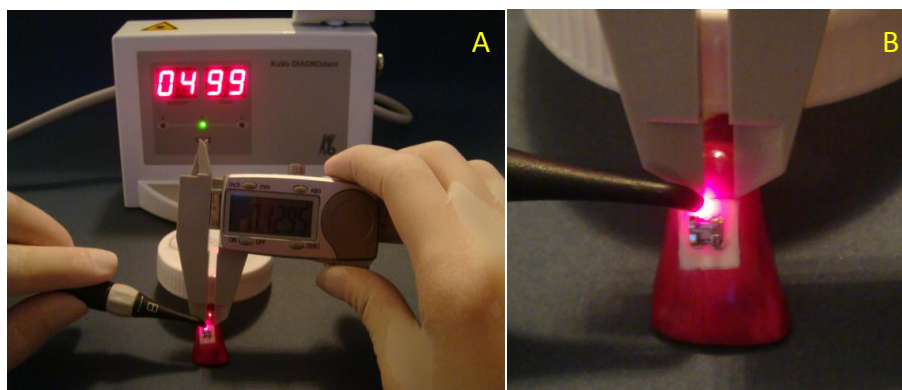
Figura 6 – **a.** Aparelho laser diodo DIAGNOdent®; **b.** Calibração do equipamento momento 1 zerando o mostrador digital; **c.** Equipamento calibrado para a realização das mensurações.



Fonte: Próprio

³ In: www.kavousa.com

Figura 7 – **a.** Mensuração, por meio do DIAGNOdent®, da perda mineral da superfície dentária com auxílio do paquímetro digital; **b.** Vista aproximada do procedimento de mensuração.



Fonte: Própria

4.2.2 Preparo das soluções des e remineralizante

As soluções des e remineralizante utilizadas no experimento foram preparadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, conforme preconizadas por Moi e Queiroz (MOI *et al.*, 2008; QUEIROZ *et al.* 2008) .

Para isto, cada componente das soluções foi pesado em balança de precisão (Adventurer Ohaus, China) e dissolvido um a um em água destilada-deionizada.

No preparo da solução desmineralizante foram utilizados os seguintes componentes:

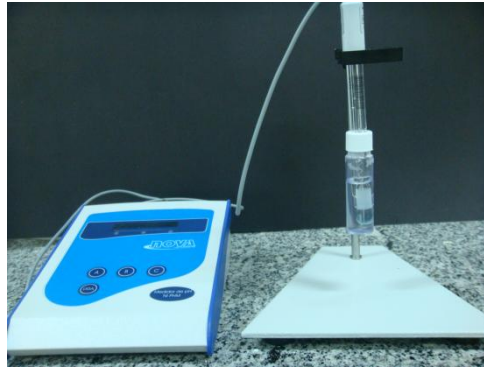
- 1,28 mmol/L de Ca^{++} ,
 - 0,74 mmol/L de P_i (fosfato inorgânico) ,
 - 0,03 μg F/mL
- Dissolvidos em 0,05 mol/L de solução de acetato em pH de 5,0.

Para a solução remineralizante fez-se uso:

- 1,5 mmol/L de Ca^{++}
 - 0,9 mmol/L de P_i ,
 - 150 mmol/L de KCl
 - 0,05 μg F/mL
- Dissolvidos em 0,1 mol/L de solução de Tris em pH 7,0.

Após a homogeneização das soluções, a confirmação do pH dos tampões foi medido com auxílio de um phmetro (Nova Instrumentos, Piracicaba, Brasil) (Figuras 8 e 9).

Figura 8 – Phmetro utilizado para a análise das soluções des e remineralizante.



Fonte: Própria

Figura 9 – a. Aferição do pH da solução desmineralizante utilizada no experimento; b. Vista aproximada do mostrador digital do phmetro.

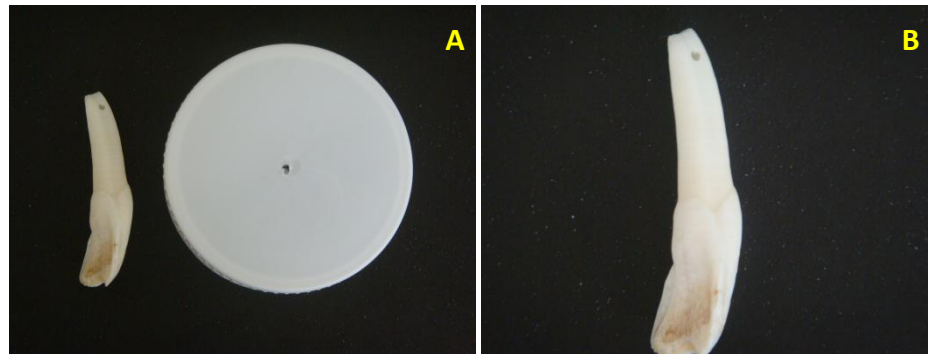


Fonte: Própria

4.2.3 Teste das soluções des e remineralizante

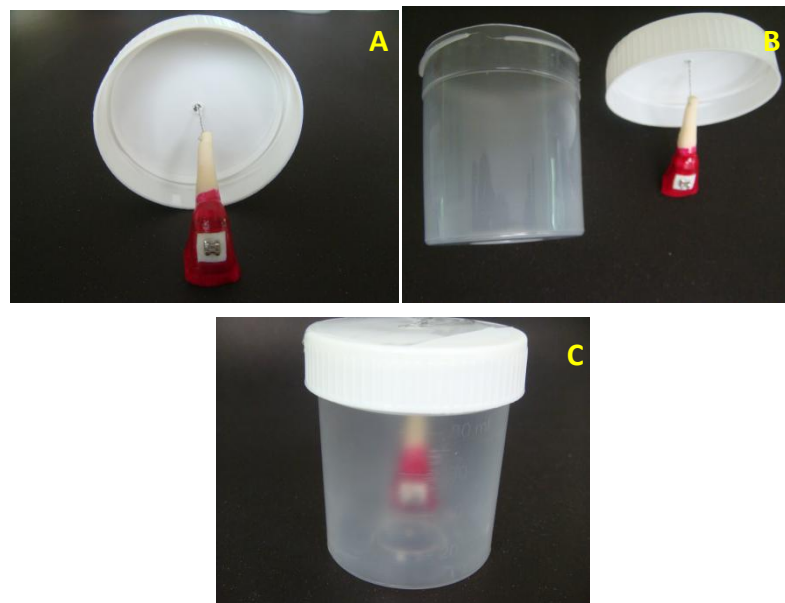
Oito dentes já submetidos à preparação prévia e à leitura com laser DIAGNOdent[®] foram colocados individualmente em coletores universais transparentes (Medlab, São Paulo, Brasil), de capacidade de 80 mL, de modo a ficarem suspensos por um fio de CrNi 0,12” (Morelli, Sorocaba, Brasil), fixados no centro da tampa do recipiente. Para tal, perfurações no terço apical e no centro da tampa foram realizadas em alta rotação, com ponta diamantada cônica n. 3038 (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), sendo o fio transfixado com auxílio de uma pinça Mathiew (Quinelato, São Paulo, Brasil) (Figuras 10 e 11).

Figura 10 – **a.** Dente bovino e tampa do coletor universal perfurados; **b.** Vista aproximada do dente bovino com perfuração na porção apical.



Fonte: Própria

Figura 11 – **a.** Dente bovino fixado com fio de amarelo na tampa do coletor universal; **b.** Conjunto coletor e tampa com dente bovino fixado; **c.** Vista aproximada do dente bovino transfixado no coletor universal.



Fonte: Própria

Os dentes foram enxaguados rapidamente com água destilada-deionizada com auxílio de uma pisseta e submersos individualmente em solução desmineralizante [1,28 mmol/L de Ca^{++} , 0,74 mmol de P_i , 0,03 μg F/mL em 0,05 mol/L de solução de acetato, pH 5,0], por um período de quatro horas. Cada recipiente continha 50 mL desta solução.

Após esse tempo, cada dente foi novamente enxaguado com água destilada deionizada, secos espontaneamente e submetidos à leitura com o laser de diodo.

Posteriormente, foram submersos em solução remineralizante (1,5 mmol/L de Ca^{++} , 0,9 mmol/L de P_i , 150 mmol/L de KCl, 0,05 μg F/mL em 0,1 mol/L de solução de Tris, pH 7,0) por um período de 20 horas. Em seguida, cada dente foi novamente enxaguado com água destilada-deionizada, secos espontaneamente e submetidos à leitura com o laser de diodo.

O ciclo de DES x RE teve a duração de oito dias, em estufa de cultura (Fanem, São Paulo, Brasil) à temperatura de 37 °C, sendo as soluções substituídas no 4º dia do experimento (MOI *et al.*, 2008; QUEIROZ *et al.*, 2008). Cada dente teve um recipiente contendo a solução desmineralizante e outro com a remineralizante.

Ao final da ciclagem, obteve-se registros pré e pós exposição às soluções des e remineralizante, com a finalidade de verificar sua eficácia.

4.2.4 Fase experimental

Os mesmos procedimentos utilizados para a avaliação das soluções DES x RE, descritos no item 4.2.3, quanto ao preparo dos dentes, foram realizados nesta fase.

Uma amostra de 100 dentes foi avaliada, distribuída em quatro grupos de forma aleatória:

Grupo 1 (n=25), que não recebeu tratamento adicional (controle);

Grupo 2 (n=25), que recebeu aplicação única do verniz fluoretado (NaF 5%; Duraphat, Colgate, São Paulo, Brasil)

Grupo 3 (n=25), que foi aplicado o fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse (CPP-ACP 10%) (Recaldent GC, Tóquio, Japão);

Grupo 4 (n=25), que foi aplicado o fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo fluoretado em mousse (CPP-ACP 10%/ NaF 0,2%) (Recaldent GC Plus, Tóquio, Japão).

Os produtos analisados foram aplicados previamente a submissão à ciclagem DES x RE. Os últimos dois grupos receberam aplicação diária dos produtos antes da imersão em solução desmineralizante. As aplicações dos produtos (Figura 12) foram realizadas de acordo com as recomendações dos fabricantes.

Registros prévios à aplicação dos produtos, referentes à mineralização da superfície do esmalte dentário, foram obtidos nas faces superior, inferior, direita e esquerda dos braquetes de toda a amostra.

Após 5 minutos de secagem do verniz e do mousse, todos os dentes foram enxaguados por aproximadamente 10 segundos com água destilada deionizada com auxílio de uma pisseta e imersos individualmente em solução desmineralizante por um período de quatro horas. Cada recipiente conteve 50 mL desta solução.

A *posteriori*, os dentes novamente foram enxaguados com água destilada deionizada e imersos em solução remineralizante por um período de 20 horas. O ciclo com duração de oito dias se deu em estufa de cultura (Fanem, São Paulo, Brasil) à temperatura de 37 °C, sendo as soluções substituídas no 4º dia do experimento (MOI *et al.*, 2008; QUEIROZ *et al.*, 2008). Cada dente teve um recipiente contendo a solução desmineralizante e outro com a remineralizante.

Figura 12 – Produtos utilizados no experimento: fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse (GC Tooth Mousse); fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo com fluoreto de sódio 0,2% em mousse (GC Tooth Mousse Plus) e verniz fluoretado 5% (Duraphat®).



Fonte: Própria

Após os ciclos de desmineralização e remineralização, a perda mineral do esmalte foi novamente avaliada por meio do laser *DIAGNOdent*® (KaVo), analisando-se o mesmo ponto mais central de cada subface.

4.3 Procedimentos experimentais para análise qualitativa – MEV

4.3.1 Corte dos dentes

Oito dentes bovinos foram fixados individualmente em placas de acrílico (40x40x5 mm³) utilizando-se cera pegajosa (Kota, São Paulo, Brasil) (Figura 13).

Figura 13 – Dente bovino fixado com cera pegajosa em placa de acrílico



Fonte: Própria

Na porção mais plana da coroa, foi realizada uma secção dupla no sentido cérvico-incisal e outra no sentido méso-distal. Para isso, cada placa foi parafusada em um aparelho de corte de precisão (ISOMET Low Speed Saw, Buehler LTDA, USA) (Figuras 14a e 14b). Os blocos de esmalte de 4X4 mm foram obtidos utilizando-se disco diamantado dupla face, com velocidade de 200 rpm, sob refrigeração (Figura 15a e 15b).

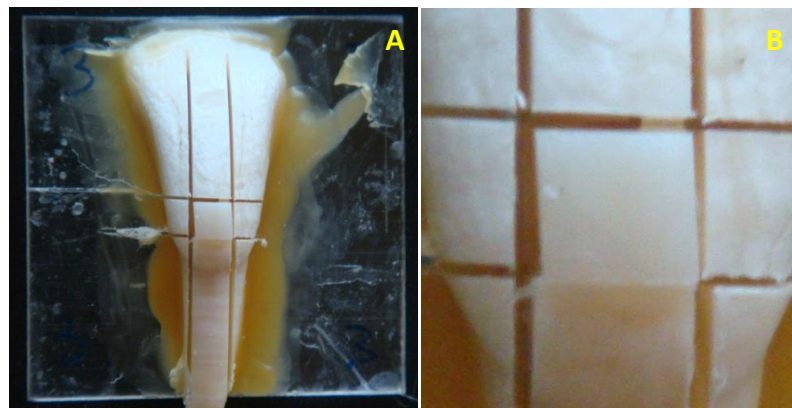
Os espécimes obtidos foram fixados em placa de acrílico com cera pegajosa Kota (Figura 16). O conjunto placa/dente foi adaptado em uma Politriz Metalográfica (Teclago, Mira, Coimbra, Portugal) para realizar a planificação e o polimento da superfície com a finalidade de remoção da camada superficial hipermineralizada do esmalte. Para tal, lixas de carbetto de silício de granulação 600 a 1200 (3M, Sumaré, São Paulo, Brasil) foram utilizadas, sob refrigeração com água destilada, por aproximadamente dois a três minutos (Figura 17) (MORON, 2011).

Figura 14 – **a.** Aparelho de corte de precisão ISOMET; **b.** Conjunto placa/dente fixado no equipamento.



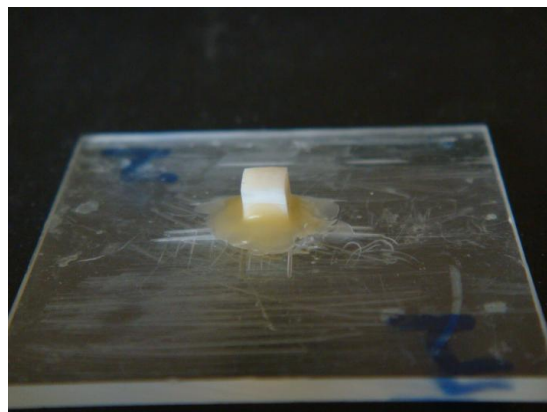
Fonte: Própria

Figura 15 – **a.** Conjunto placa/dente após a realização dos cortes; **b.** Vista aproximada do espécime obtido.



Fonte: Própria

Figura 16 – Bloco de dente bovino fixado em placa acrílica com cera pegajosa.



Fonte: Própria

Figura 17 – Politriz metalográfica utilizada para planificação e polimento dos espécimes.

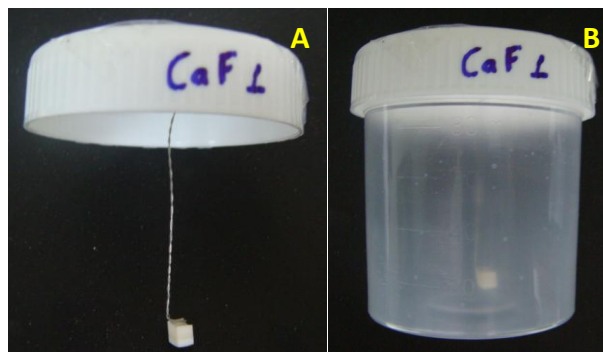


Fonte: Própria

4.3.2 Preparo dos espécimes

Os corpos de prova (n=8) foram colocados individualmente em coletores universais transparentes (Medlab, São Paulo-SP, Brasil) de capacidade de 80 mL, de modo a ficarem suspensos por um fio de CrNi 0,12" (Morelli, Sorocaba-SP, Brasil), fixados no centro da tampa do recipiente. Para tal, perfurações no centro da tampa foram realizadas em alta rotação, com ponta diamantada cônica n. 3038 (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), sendo o fio transfixado com auxílio de uma pinça Mathiew (Quinelato, São Paulo, Brasil) e colado no centro da superfície não analisada de cada corpo de prova com cola de alta adesividade (SUPERBONDER, Henkel LTDA, Brasil) (Figura 18).

Figura 18 – **a.** Corpo de prova fixado na tampa do coletor; **b.** Conjunto coletor/corpo de prova pronto para fase experimental.



Fonte: Própria

Posteriormente, os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em:

Grupo 1 (n=02), que não recebeu tratamento adicional (controle);

Grupo 2 (n=02), que recebeu aplicação única do verniz fluoretado (NaF 5%; Duraphat, Colgate, São Paulo, Brasil);

Grupo 3 (n=02), que foi aplicado o fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse (CPP-ACP 10%) (Recaldent GC, Tóquio, Japão);

Grupo 4 (n=02), que foi aplicado o fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo fluoretado em mousse (CPP-ACP 10% / NaF 0,2%) (Recaldent GC Plus, Tóquio, Japão).

Como mencionado na análise quantitativa, os produtos utilizados também foram aplicados previamente a submissão à ciclagem DES/RE. Os últimos dois grupos receberam aplicação diária dos produtos antes da imersão em solução desmineralizante

A amostra foi submetida aos mesmos procedimentos referentes ao ciclo DES/RE para a análise quantitativa.

Após a ciclagem, os espécimes foram abundantemente lavados com água destilada-deionizada, secos em estufa a 35 °C por um período de 20 horas e encaminhados para serem preparados e submetidos à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Durante o preparo, os blocos de esmalte foram removidos do conjunto coletor/fio de amarelo com auxílio de um alicate de corte reto (Quinelato, São Paulo, Brasil), fixados individualmente em *stubs* com fita dupla face (3M, São Paulo, Brasil) e realizada aplicação de tinta condutora de prata (Dotite Fujikura, Kasei, Japão) em um dos lados, da base ao ápice destes. Ficaram por um período de duas horas ao ar livre para a secagem da tinta condutora (Figura 19).

Figura 19 – Espécime fixado em *stub* com auxílio de fita dupla face e tinta condutora de prata.



Fonte: Própria

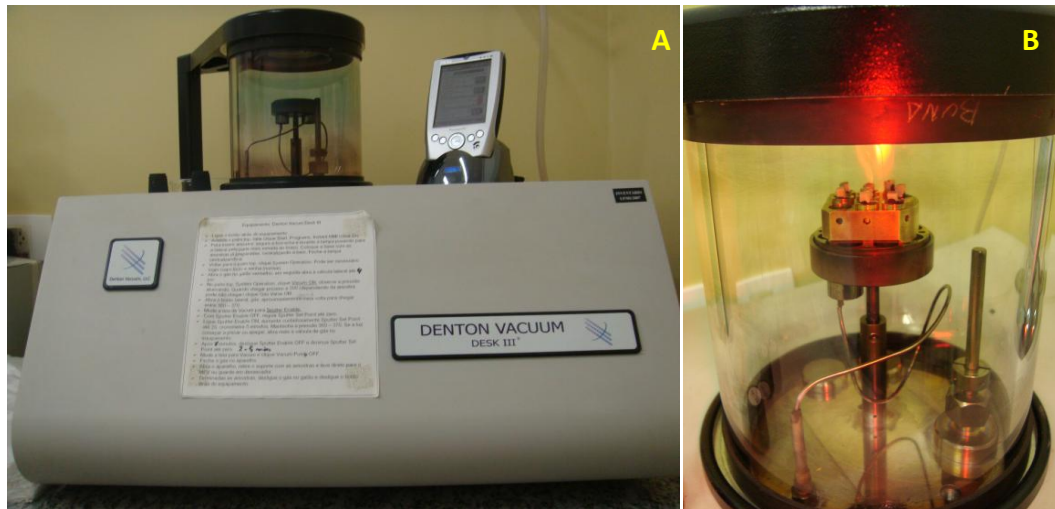
A seguir, os espécimes foram inseridos em suporte específico e colocados no *Sputtering* (Denton Vacuum LLC DesK III, New Jersey, USA), durante cinco minutos, para fosse realizado o depósito de ouro sobre a superfície destes, possibilitando a análise com o microscópio eletrônico de varredura (Figuras 20 e 21a e b).

Figura 20 – Suporte do equipamento *Sputtering* com os espécimes fixados em *stubs*.



Fonte: Própria

Figura 21 – **a.** Equipamento *Sputtering*; **b.** Espécimes inseridos no *Sputtering* recebendo o filme de ouro.



Fonte: Própria

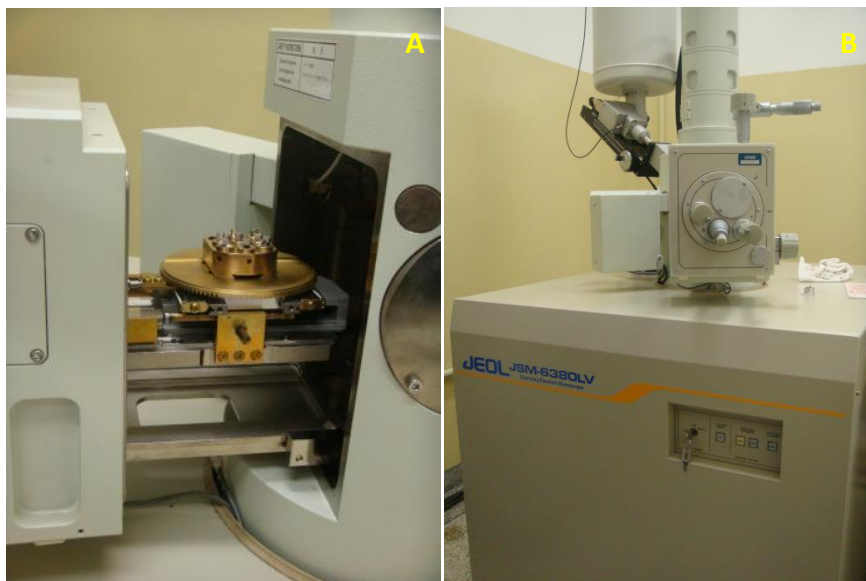
Passado o procedimento, os espécimes foram removidos do *sputtering* (Figura 22), inseridos no Microcópico Eletrônico de Varredura (Jeol JSM-6380LV, Japão) (Figura 23a e b) e submetidos a análise.

Figura 22 – Espécimes após receber o filme de ouro.



Fonte: Própria

Figura 23 – a. Espécimes inseridos no microscópio; b. Microscópio Eletrônico de Varredura.



Fonte: Própria

4.4 Análise estatística

A mensuração da quantidade de mineral do esmalte dentário foi avaliada quantitativamente pelo DIAGNOdent®. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade para a escolha dos testes estatísticos.

Para comparação dos valores obtidos na pré e pós-ciclagem das superfícies dentárias, segundo os dias de utilização da solução de desmineralização e remineralização (Anexo 1), foi utilizado o teste de Wilcoxon, e para a comparação dos valores de fluorescência pré e pós ciclagem e da remineralização entre os quatro grupos de estudo foi utilizado o teste Kruskal Wallis seguido do teste Student-Newman-Keuls. O nível de significância adotado foi de 5%. Foi utilizado o programa estatístico Bio Estat versão 5.3 (AYRES *et al.*, 2007).

5 RESULTADOS

5.1 Mineralização do esmalte dentário

Após os procedimentos referentes ao ciclo de desmineralização, descritos no capítulo de Materiais e Métodos, item 4.2.3, a mineralização do esmalte dentário foi avaliada quantitativamente utilizando-se o DIAGNOdent®. Os valores mostrados no aparelho referem-se à fluorescência emitida pelo tecido quando submetido ao laser de baixa potência. Quanto maior a perda mineral, maior a fluorescência.

A comparação dos três grupos experimentais ao grupo controle mostrou diferença significativa ($p < 0,001$) quanto à capacidade de promover a remineralização do esmalte dentário ao redor dos braquetes ortodônticos. Porém, ao se calcular a média de todas as faces mensuradas, não houve diferenças significativas na remineralização do esmalte entre os produtos testados.

A Tabela 1 nos mostra a média das médias das mensurações pré e pós ciclagem obtidas por meio da fluorescência, a partir das quais foram obtidos os valores médios de remineralização de cada grupo testado.

Tabela 1 – Valores de fluorescência a laser, obtidos por meio do DIAGNOdent®, em função do tratamento do esmalte dentário após ciclo de desmineralização e remineralização. (n=100)

Ciclagem	Controle	Verniz fluoretado 5%	CPP-ACP ⁽¹⁾	CPP-ACP com fluoreto ⁽²⁾	p ⁽³⁾
Pré (n=25)	7,1 ± 4,2 ^a	9,5 ± 4,4 ^b	8,4 ± 4,4 ^b	8,4 ± 3,2 ^b	<0,001
Pós (n=25)	3,9 ± 3,7 ^a	2,5 ± 3,3 ^b	1,2 ± 1,5 ^c	0,8 ± 1,0 ^c	<0,001
p ⁽⁴⁾	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	-

⁽¹⁾ fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse 10%.

⁽²⁾ fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse 10% com fluoreto de sódio 0,2%.

⁽³⁾ Teste de Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls. Letras diferentes nas linhas indicam diferença estatisticamente significativa. ⁽⁴⁾ Teste de Wilcoxon, pré versus pós.

Para a obtenção dos valores de remineralização encontrados, subtraiu-se da medida aferida previamente à ciclagem o valor mensurado após a conclusão desta (medida pré – medida pós). Os resultados são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores de remineralização obtidos por meio da fluorescência a laser (DIAGNOdent®), em função do tratamento do esmalte dentário após ciclo de desmineralização e remineralização. (n=100)

Superfícies dentárias	Controle	Verniz fluoretado 5%	CPP-ACP ⁽¹⁾	CPP-ACP com fluoreto ⁽²⁾	p ⁽³⁾
		Média ± Desvio padrão			
Superior (n=25)	3,8 ± 2,2 ^a	7,4 ± 2,5 ^b	8,0 ± 4,3 ^b	8,4 ± 2,8 ^b	<0,001
Inferior (n=25)	3,7 ± 1,9 ^a	6,9 ± 1,8 ^b	8,6 ± 4,1 ^b	8,1 ± 2,8 ^b	<0,001
Direita (n=25)	3,1 ± 2,0 ^a	6,9 ± 2,5 ^b	6,4 ± 2,9 ^b	7,0 ± 2,8 ^b	<0,001
Esquerda (n=25)	2,2 ± 1,4 ^a	6,6 ± 1,2 ^b	6,0 ± 3,4 ^b	7,1 ± 2,2 ^b	<0,001
Média (n=100)	3,2 ± 2,0 ^a	7,0 ± 2,1 ^b	7,3 ± 3,8 ^b	7,7 ± 2,7 ^b	<0,001

⁽¹⁾ fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse.

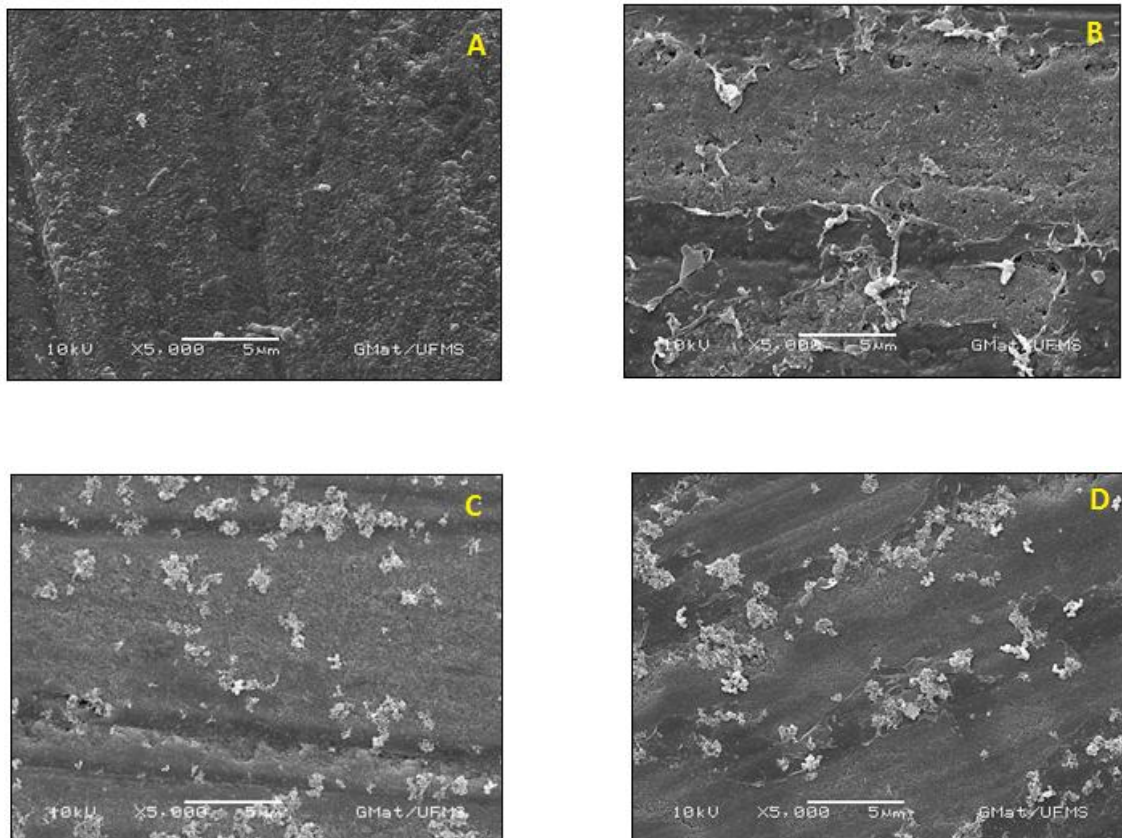
⁽²⁾ fosfopeptídeo de caseína - fosfato de cálcio amorfo em mousse com fluoreto de sódio a 0,2%.

⁽³⁾ Teste de Kruskal Wallis seguido de Student-Newman-Keuls. Letras diferentes nas linhas indicam diferença estatisticamente significativa.

5.2 Análises da superfície do esmalte dentário

A Microscopia Eletrônica de Varredura revelou diferenças na superfície do esmalte em função dos diferentes tratamentos a que o tecido foi submetido. Em cada grupo (controle e grupos experimentais), as imagens obtidas foram semelhantes, sendo que a imagem selecionada reflete os resultados obtidos nas demais amostras.

Figura 24 – Fotomicrografia da superfície do esmalte dentário em função dos tratamentos do tecido: **a.** Controle; **b.** Verniz Fluoretado a 5%; **c.** Fosfopeptídeo de caseína e fosfato de cálcio amorfo; **d.** Fosfopeptídeo de caseína e fosfato de cálcio amorfo fluoretado NaF 0,2%. (aumento de 5.000 x).



Fonte: Própria

6 DISCUSSÃO

Pacientes em tratamento ortodôntico apresentam risco à cárie aumentado devido à ampliação dos sítios de retenção do biofilme. Nosso estudo demonstrou que os três produtos estudados são capazes de promover a remineralização do esmalte ao redor de braquetes ortodônticos, após submeter o tecido a ciclos de desmineralização e remineralização.

Esse modelo de ciclo de DES x RE busca mimetizar os fenômenos físico-químicos que ocorrem no esmalte dentário e que caracterizam a lesão de cárie dentária ainda em níveis microscópicos. O avanço desses fenômenos resulta na lesão de mancha branca por desmineralização, primeiro sinal clínico da cárie dentária (CONSOLARO, 2006). Simular *in vitro* a dinâmica da lesão tem sido o método adotado nos experimentos que avaliam os produtos indicados para a redução da perda mineral e consequente avanço da lesão cariosa (TODD *et al.*, 1999; SCHMIT *et al.*, 2002; DEMITO *et al.*, 2004; HU; FEATHERSTONE, 2005; SUDJALIM *et al.*, 2007; KUMAR *et al.*, 2008; BEHNAN *et al.*, 2010; UYSAL *et al.*, 2010; JAYARAJAN *et al.*, 2011; MAYNE *et al.*, 2011; NALBANTGIL *et al.*, 2013).

Optamos em trabalhar com dentes bovinos, visto a validade de sua utilização em estudos *in vitro*. Essa possibilidade deve-se à semelhança do substrato desses dentes aos dos dentes humanos. A microdureza do esmalte e da dentina de dentes humanos é estatisticamente semelhante a dos dentes bovinos (DONASSOLO *et al.*, 2007). Muita informação tem sido gerada usando-se dentes bovinos como substrato, favorecendo maior número de repetições por grupo experimental, dada a maior facilidade de aquisição e serem considerados aceitáveis em testes *in vitro*. Sobre estudos *in vitro*, ainda que os testes laboratoriais não reproduzam exatamente as condições que ocorrem *in vivo*, constituem importante parâmetro de análise, uma vez que, se o material apresentar comportamento eficiente *in vitro*, maior probabilidade de um desempenho clínico satisfatório (LARRY *et al.*, 1998; SIMAS *et al.*, 2011).

A escolha pelo DIAGNOdent® para avaliar a perda mineral nos espécimes submetidos ao ciclo de DES x RE é subsidiada por se tratar de um método avançado de diagnóstico de cárie dentária que oferece, quantitativamente, a avaliação de descalcificações do tecido. Este equipamento é basicamente um laser de diodo que baseia-se no fato de que substâncias duras desmineralizadas

fluorescem quando excitadas por radiação de laser com comprimentos de onda situados entre 550 e 670 nm, e há uma correlação direta entre o valor medido e o tamanho da lesão, o que permite uma quantificação dos registros. Constitui um sistema objetivo de avaliação que tem sido utilizado na avaliação dos métodos tradicionais, visto seus resultados serem próximos ao padrão ouro de diagnóstico de cárie, o exame histológico (MATHEUS *et al.*, 2010). Mostra-se também eficiente para o monitoramento de pequenas mudanças incipientes de esmalte e que pode ser bastante útil em investigações clínicas sobre medidas preventivas em grupos de risco, como os pacientes ortodônticos (VOSS *et al.*, 1993; BISHARA *et al.*, 1994; SCHMIT *et al.*, 2002).

Sobre os produtos testados, a literatura nos mostra a efetividade da CPP-ACP e da CPP-ACP com fluoreto em remineralizar o esmalte fragilizado pela perda mineral devido à diferença de solubilidade em relação ao meio bucal. Também é bem estabelecida a eficácia dos fluoretos como agente terapêutico nessas condições, especialmente o verniz fluoretado, em função da concentração de fluoreto (F⁻) no produto (REYNOLDS, 1999; OSHIRO *et al.*, 2007; ANDERSSON *et al.*, 2007; SUDJALIM *et al.*, 2007; CROSS *et al.*, 2007; KUMAR *et al.*, 2008; BEHNAN *et al.*, 2010; UYSAL *et al.*, 2010; JAYARAJAN *et al.*, 2011; MAYNE *et al.*, 2011; ROBERTSON *et al.*, 2011). Em nosso estudo, optamos pelo Duraphat®, produto mais avaliado entre as diferentes marcas de vernizes no mercado, além de apresentar os melhores resultados quanto à capacidade de remineralização do esmalte, provavelmente devido sua composição (NaF 5%; cerca de 22.000 ppm F⁻). Entretanto, são escassas as comparações entre esses materiais. Os resultados poderão auxiliar os profissionais, especialmente os ortodontistas, no controle do risco de cárie, situação comum entre os pacientes ortodônticos.

A fim de reproduzir a sequência dos fenômenos que ocorrem na cavidade bucal, inicialmente foi mensurada a mineralização do esmalte ao redor braquetes ortodônticos de todas as amostras (análogo ao momento prévio à colocação de aparatos ortodônticos). A média da fluorescência inicialmente verificada foi de $7,1 \pm 4,2$ no grupo controle; $9,5 \pm 4,4$; $8,4 \pm 4,4$ e $8,4 \pm 3,2$ nos grupos fluoreto, caseína e caseína fluoretada, respectivamente (Tabela 1). Em seguida, todas as amostras foram submetidas ao ciclo de DES x RE. A efetividade da ciclagem pode ser comprovada pela análise da mineralização das superfícies do esmalte pré e pós

ciclagem (Anexo 1), aqui fazendo uma analogia ao aumento do risco de cárie que o aparelho ortodôntico poderia representar.

A Tabela 1 também nos mostra que os valores de fluorescência do esmalte após o tratamento foram inferiores e altamente significantes ($3,9 \pm 3,7$ controle; $2,5 \pm 3,3$; $1,2 \pm 1,5$ e $0,8 \pm 1,0$ grupos fluoreto, caseína e caseína fluoretada, respectivamente) ($p < 0,001$), comparados aos valores pré ciclagem. Isso traduz que o verniz fluoretado, a CPP-ACP e a CPP-ACP fluoretada foram eficazes em remineralizar o esmalte após o ciclo de DES x RE.

A capacidade do verniz fluoretado em remineralizar o esmalte já é conhecida (CURY, 1996; OGAARD *et al.*, 2001; SCHMIT *et al.*, 2002; GORTON; FEATHERSTONE, 2003; DEMITO *et al.*, 2004; HU; FEATHERSTONE, 2005; SKÖLD *et al.*, 2005; FARHADIAN *et al.*, 2008; MARINHO *et al.*, 2009; DEMITO *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2013). A alta concentração de F^- no produto promove a formação de apatita fluoretada na superfície do esmalte, que juntamente ao ganho de íons como cálcio e fosfato, caracterizam o processo de remineralização. Além disso, por se tratar de um produto de alta concentração de F^- , promove a formação de fluoreto de cálcio (CaF_2) na superfície, cristal que atua como reservatório de F^- , a fim de que o íon esteja disponível nos momentos em que o pH atinja o valor crítico (5,5) em relação ao grau de solubilidade do esmalte (FEATHERSTONE, 1999). Os valores de fluorescência observados nos espécimes que receberam o verniz fluoretado mostram que a remineralização ocorreu, uma vez que valores abaixo de 10 traduzem tecido sadio, conforme os parâmetros do DIAGNOdent[®], assim como traduzem que fenômenos físico-químicos ocorreram, visto a diferença significativa da fluorescência antes dos espécimes serem submetidos ao ciclo de DES x RE.

A eficácia da CPP-ACP e CPP-ACP com fluoreto pode ser observada. Ambos os grupos mostraram valores de remineralização, por meio da fluorescência, altamente significantes em relação ao grupo controle ($p < 0,001$) (Tabela 2). Outros estudos também mostraram a eficácia desses produtos (ANDERSSON *et al.*, 2007; SUDJALIM *et al.*, 2007; KUMAR *et al.*, 2008; BEHNAN *et al.*, 2010; UYSAL *et al.*, 2010; JAYARAJAN *et al.*, 2011; MAYNE *et al.*, 2011; ROBERTSON *et al.*, 2011; SHEN *et al.*, 2011).

Dois aspectos devem ser considerados a fim de se explicar essa ação: a interferência da caseína na produção da glicosiltransferase, interferindo diretamente na produção de glucanos e aderência bacteriana (VACCA-SMITH; BOWEN, 1995;

DASHPER *et al.*, 2013). Entretanto, nosso estudo não abrangeu os fenômenos microbiológicos da dinâmica da cárie dentária, uma vez que o ciclo de DES x RE busca mimetizar os fenômenos físico-químicos envolvidos na dinâmica da lesão. Para a análise sob esse ponto de vista, emprega-se o modelo microbiológico para cárie artificial.

Nas condições experimentais relatadas, a redução do valor da fluorescência, o que reflete a uma maior mineralização do tecido, pode ser explicado pela presença dos fosfatos de cálcio amorfo na superfície do esmalte, causando neutralização os íons de Ca^{++} e $(\text{PO}_4)^{-}$, favorecendo a supersaturação do esmalte (OSHIRO *et al.*, 2007).

Porém, nossa proposta foi comparar o verniz fluoretado à CPP-ACP e CPP-ACP fluoretada. Pela análise da Tabela 2, podemos observar que os espécimes tratados apresentaram remineralização significativamente maior ($p < 0,001$) que o grupo controle, porém, a mineralização do esmalte foi semelhante, independente do tecido ter sido tratado com verniz fluoretado, CPP-ACP ou CPP-ACP fluoretada.

A fim de complementar a análise quantitativa, foi realizada a Microscopia Eletrônica. O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para a observação e análise de características microestruturais de objetos sólidos. A principal razão de sua utilidade é a alta resolução obtida quando as amostras são observadas, com valores na ordem de dois a cinco nanômetros, permitindo aumentos de até 300.000 vezes e conservando a profundidades de campo compatível a observação de superfícies rugosas. Outra característica importante do MEV é a aparência tridimensional das imagens das amostras, resultado direto da grande profundidade de campo (DEDAVID *et al.*, 2007).

A Figura 24 nos mostra que os espécimes dos diferentes grupos tratados não apresentaram diferenças marcantes entre si, especialmente em relação à ausência de áreas de descontinuidade da superfície do esmalte. Observa-se que o espécime tratado com verniz fluoretado (Figura 24b) apresentou quantidade de poros maior que os demais (Figuras 24c e 24d), porém, sem comprometimento da continuidade do tecido. As superfícies tratadas se mostraram regulares de forma similar. Já a superfície do espécime do grupo controle (Figura 24a), que não recebeu tratamento algum, mas que também foi submetido ao ciclo de DES x RE, revelou

irregularidades, sugerindo que a ausência de tratamento dificultou na remineralização do esmalte, sendo o fenômeno atribuído apenas à ciclagem.

Os resultados desse estudo nos mostraram, tanto por parâmetros quantitativos quanto qualitativos, a importância do tratamento do esmalte que se encontra em condições de risco de cárie aumentado. Ainda, que independente do produto utilizado, seja o verniz fluoretado, seja CPP-ACP ou CPP-ACP com fluoreto, todos promovem a remineralização do tecido, ficando a escolha a critério do profissional. O importante é que este saiba que o esmalte ao redor do braquete ortodôntico pode apresentar lesões incipientes de cárie, muitas vezes não diagnosticadas durante o tratamento, e que a utilização de produtos que promovem a remineralização garante um prognóstico favorável à manutenção dos tecidos dentários.

7 CONCLUSÕES

Baseados nos resultados e análises apresentados, conclui-se:

- a) O fosfopeptídeo de caseína, fluoretado ou não, e o verniz fluoretado, apresentam capacidades semelhantes de remineralização do esmalte ao redor de braquetes ortodônticos, pós-ciclagem de desmineralização e remineralização.
- b) A aplicação dos produtos foi capaz de manter a regularidade da superfície do esmalte, compatível com a integridade do tecido.

REFERÊNCIAS

Ayres M, Ayres Jr. M, Ayres DL, Santos AAS. BioEstat. Aplicações estatísticas das Ciências Bio-médicas [programa de computador]. Versão 5.3. Belém (PA): Sociedade Mamirauá; 2007.

Andersson A, Skold-Larsson K, Hallgren A, Petersson LG, Twetman S. Effect of a dental cream containing amorphous cream phosphate complexes on white spot lesion regression assessed by laser fluorescence. *Oral Health Prev Dent.* 2007; 5(3):229-33.

Behnan SM, Arruda AO, Gonzalez-Cabezas C, Sohn W, Peterse MC. In-vitro evaluation of various treatments to prevent demineralization next to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010; 138:712.e1-712.e7.

Bishara SE, Swift EJ, Chan DC. Evaluation of a fluoride release from orthodontic bonding system. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994; 100:106-9.

Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J.* 2003; 48(4):240-3.

Chen H, Liu X, Dai J, Jiang Z, Guo T, Ding T. Effect of remineralizing agents on white spots lesions after orthodontics treatment: a systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2013; 143(3):376-82.

Cochrane NJ, Reynolds EC. Calcium phosphopeptides -- mechanisms of action and evidence for clinical efficacy. *Adv Dent Res* 2012; 24(2):41-7.

Consolaro A, Consolaro MFM. Lesões cariosas incipientes e formação de cavidades durante o tratamento ortodôntico. *Rev. Clín. Ortodon. Dental Press* 2006, 5(4): 104-11.

Cross KJ, Hug NL, Reynolds EC. Casein phosphopeptides in oral health-chemistry and clinical applications. *Curr Pharm Des* 2007; 13(5): 793-800.

Cury JA. Dentifrícios fluoretados no Brasil. *Jornal da ABOPREV* 1996; 7: 6.

Dashper SG, Liu S, Walsh KA, Adams GG, Stanton DP, Ward BR, Shen P, O'Brien-Simpson NM, Reynolds EC. Streptococcus mutans biofilm disruption by κ -casein glycopeptide. *J Dent* 2013; 41(6):521-7.

Dedavid BA, Gomes CI, Machado G. Microscopia eletrônica de varreduras: aplicações e preparação de amostras: matérias poliméricos, metálicos e semicondutores. In: Dedavid BA, Gomes CI, Machado G. Microscopia eletrônica de varreduras. Porto Alegre:EDIPUCRS; 2007. p. 9.

Demito CF, Vivaldi- Rodriguez, G, Ramos AL, Bonmam JS. The efficacy of a fluoride varnish in reducing enamel demineralization adjacent to orthodontic brackets: an in vitro study. *Orthod Craniofacial Res* 2004; 7:205-10.

Demito CF, Vivaldi- Rodriguez, G, Ramos AL, Bonmam JS. Efficacy of a fluoride varnish in preventing white-spot as measured with laser fluorescence. *J. Clin Orthod* 2011, 45(1):25-9.

Donassolo TA, Romano AR, Demarco FF, Della-Bona A. Avaliação da microdureza superficial do esmalte e da dentina de dentes bovinos e humanos (permanentes e decíduos). *Rev. Odonto ciênc.* 2007; 22(58):311-6.

Farhadian N, Miresmaeili A, Eslami B, Mehrabi S. Effect of fluoride varnish on enamel demineralization around brackets: An in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthopedics* 2008; 133:S95-8.

Featherstone JD. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999; 27(1):31-40.

Hu W, Featherstone JDB . Prevention of enamel demineralization: An in-vitro study using light-cured filled sealant. *Am J of Orthod Dentofacial Orthopedics* 2005; 128(5): 592-600.

Giorgi MR *et al.* Biofilm Bacteriano: responsible infecciones refractarias. *Rev Asoc Odontol Argent* 2001; 5:299-301.

Gorton J, Featherstone JD. In vivo inhibition of demineralization around orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003; 123(1):10-4.

Jayrajan J, Janardhanam P, Jayakumar P, Deepik A. Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization - an in vitro study using scanning electron microscope and DIAGNOdent. *Indian J Dent Res* 2011; 22(1): 77-82.

Kumar VLN, Itthagaram A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an *in vitro* study. *Aust Dent J* 2008; 53:34-40.

Krüger CCH, Cândido LMB. Caseinofosfopeptídeos: obtenção e atividade biológica. *Alim. Nutr* 2009; 20(1): 167-73.

Larry JO, William CS, Gary KB. The use of bovine enamel in bonding studies. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998; 114:514-9.

Marinho VCC, Higgins JPT, Stuart L, Sheiham A. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Review*. In: *The Cochrane Library*, 2009. Issue 5. Art. N° CD 002279.

Marsh PD. Plaque and its significance in health and disease. *Microb Eco Dent* 1994; 8(2):263-71.

Matheus PD, Demito CF, Scheibel PC, Bowman SJ, Ramos AL. Correlação entre a avaliação microscópica e a leitura por laserfluorescência de lesões de manchas brancas em dentes bovinos: estudo *in vitro*. *Odonto* 2010; 18(36):31-9.

Mayne RJ, Cochrane JN, Cai F, Woods MG, Reynolds EC. In-vitro study of the effect of casein phosphopeptide amorphous calcium fluoride phosphate on iatrogenic damage to enamel during orthodontic adhesive removal. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011, 139(6): 543-51.

Moi GP, Tenuta LMA, CURY JA. Anticaries potential of a fluoride mouthrinse evaluated *in vitro* by validated protocols. *Braz Dent J* 2008; 19(2):91-6.

Moron BM. Comparação entre diferentes métodos para a produção e análise de cárie artificial em esmalte e dentina [Dissertação]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2011.

Nalbantgil D, Oztoprak M O, Cakan D G, Bozkurt K, Arun T. Prevention of demineralization around orthodontic brackets using two different fluoride varnishes. *Eur J Dentistry* 2013; 7(1):41-7.

Narvai PC. Cárie dentária e flúor: uma relação do século XX. *Ciência & Saúde Coletiva* 2000; 5(2):381-92.

Ogaard B, Duschner H, Ruben J, Arends J. Microradiography and confocal laser scanning microscopy applied to enamel lesions formed in vivo with and without fluoride varnish treatment. *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(4 - Pt 1):378-83.

Ogaard B, Larsson E, Henriksson T, Birkhed D, Bishara ES. Effects of combined application of antimicrobial and fluoride varnishes in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001; 120:28-35.

Oshiro M, Yamagushi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa S, Miyazaki M. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci* 2007; 49:115-20.

Puppim Filho A, Brunharo IHVP, Costa TD, Medeiros UV. Controle da doença cárie em pacientes submetidos a tratamento ortodôntico. *Rev Bras Odontol* 2002; 59(4): 267-71.

Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. Ph-Cycling to evaluate the effect of low Fluoride dentifrice on Enamel de- and remineralization. *Braz Dent J* 2008, 19(1): 21-7.

Reynolds EC. Os progressos na remineralização do esmalte: fosfopeptídeos de caseína-fosfato de cálcio amorfo. *J Clin Dent* 1999; 10:86-8.

Ribeiro AA, Caldas SGFR, Araújo MVA, Florêncio Filho C. Cárie em decorrência do tratamento ortodôntico é sinônimo de insucesso? *Rev Clin Ortodon Dental Press* 2009; 8(2):73-9.

Ribeiro AA, Caldas SGFR, Araújo MVA, Florêncio Filho C, Neto OJP. A eficácia da colagem de braquetes ortodônticos com cimento de ionômero de vidro na prevenção das lesões brancas de esmalte: Revisão não sistemática. *Orthod Sci Practice* 2008, 1(4): 409-16.

Richter AE, Arruda AO, Peters MC, Sohn W. Incidence of caries lesions among patients treated with comprehensive orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011; 139(5):657-64.

Robertson MA, Kau CH, English JD, Lee RP, Powers J, Nguyenf JT. MI Paste Plus to prevent demineralization in orthodontic patients: A prospective randomized controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011; 140:660-8.

Schmit JL, Staley RN, Wefel JS, Kanellis M, Jakobsen JR, Keenan PJ. Effect of fluoride varnish on demineralization adjacent to brackets bonded with RMGI cement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002; 122(2):125-34.

Scholz-Ahrens KE, Schrezenmeir J. Effects of bioactive substances in milk on mineral and trace element metabolism with special reference to casein phosphopeptides. *Br. J. Nutr* 2000; 84:S147-S153.

Shen P, Manton DJ, Cochrane NJ, Walker GD, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of added calcium phosphate on enamel remineralization by fluoride in a randomized controlled in situ trial. *J Dent* 2011; 39(7):518-25.

Simas CMS, Costa EL, Lopes FF, Costa JF. Efeito do substrato e do tipo de adesivo dental na microinfiltração em restauração de resina composta. *Odontol. Clín-Cient.* (Online). 2011 [citado 07 jun 2013]. Disponível em: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167738882011000100009&lng=es.

Sköld UM, Birkhed D, Lith A, Petersson LG. Effect of Scholl-based fluoride varnish programmes on approximal caries in adolescents from different caries risk areas. *Caries Res* 2005; 39:273-9.

Spolidorio MP, Zuanon ACC, Zuanon JA. Biofilme Dentário. *Rev Paul Odontol* 2003; 5: 27-9.

Sudjalim TR.; Woods MG.; Manton DJ, Reynolds EC. Prevention of demineralization around orthodontic brackets in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007; 131(6):705-09.e1.

Todd MA, Staley RN, Kanellis M, Donly K, Wefel JS. Effect of a fluoride varnish on demineralization adjacent to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999; 116(2):159-67.

Uysal T, Amasyali M, Koyoyuturk AE, Ozcan S. Effects of different topical agents on enamel demineralization around orthodontic brackets: an in vivo and in vitro study. *Aust Dent J* 2010; 55(3):268-74.

Vacca-Smith AM, Bowen WH. The effect of milk and Kappa casein on streptococcal glucosyltransferase. *Caries Res.* 1995; 29(6):498-506.

Voss A, Hickel F, Holkner S. In vivo bonding of orthodontic brackets with glass ionomer cements. *Angle Orthod* 1993; 63:149-53.

Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent* 2006; 34:230-6.

ANEXO 1- Teste das soluções desmineralizante e remineralizante

As soluções desmineralizante (DES) e remineralizante (RE) utilizadas no experimento foram preparadas e oito amostras de dentes bovino submetidas a ciclagem conforme a metodologia descrita para a verificação da eficácia das soluções nos processos de des e remineralização, respectivamente. Resultados estatisticamente significantes foram encontrados ao comparar-se a mineralização tecidual entre pré e pós submersão em solução desmineralizante e entre pós submersão desmineralizante e pré submersão referente ao dia seguinte (a qual correspondeu a medida pós remineralização) ($p < 0,01$) (Tabela 1).

Apenas com relação à mensuração dos dias 2 (faces inferior e direita do braquete) e 3 (faces superior, inferior e esquerda do braquete) da ciclagem, não mostrou diferença significativa entre as aferições pré e pós solução desmineralizante ($p = 0,102$). O PEAK refere-se aos maiores valores de perda mineral mensurado em cada sequência de medidas.

Tabela 1 – Valores de fluorescência (média \pm desvio padrão) e o PEAK, obtidos por meio do DIAGNOdent®, da pré e pós ciclagem segundo as superfícies dentárias e os dias de utilização das soluções de desmineralização e remineralização. Faculdade de Odontologia/UFMS – 2013 (n=8).

Superfície dentária	Dia							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Superior								
Pré	6,9 \pm 4,3	0,8 \pm 1,2	1,1 \pm 0,6	1,8 \pm 1,2	1,9 \pm 1,4	2,1 \pm 1,7	2,1 \pm 1,8	1,8 \pm 1,0
Pós	8,5 \pm 4,0	2,8 \pm 2,1	0,6 \pm 0,7	2,9 \pm 1,4	3,6 \pm 1,2	3,5 \pm 1,5	4,0 \pm 1,3	3,4 \pm 1,7
$p^{(1)}$	0,006	0,023	0,118	0,018	0,006	0,006	0,006	0,006
Inferior								
Pré	5,0 \pm 3,9	1,1 \pm 0,8	0,9 \pm 1,1	2,4 \pm 1,1	2,0 \pm 0,5	3,0 \pm 0,9	3,1 \pm 0,8	2,4 \pm 0,5
Pós	6,3 \pm 3,8	1,9 \pm 1,6	1,3 \pm 1,7	3,5 \pm 1,1	3,4 \pm 0,5	4,3 \pm 0,7	4,6 \pm 0,9	3,9 \pm 0,6
p	0,006	0,069	0,242	0,009	0,006	0,006	0,006	0,006
Direita								
Pré	3,3 \pm 1,2	1,3 \pm 0,5	1,9 \pm 0,6	3,0 \pm 1,1	2,6 \pm 0,7	4,1 \pm 0,6	3,8 \pm 0,7	2,3 \pm 0,9
Pós	4,3 \pm 1,0	2,0 \pm 1,2	0,8 \pm 1,0	4,1 \pm 1,2	4,0 \pm 1,1	5,3 \pm 0,7	5,0 \pm 0,9	3,8 \pm 0,5
p	0,014	0,053	0,026	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006
Esquerda								
Pré	3,6 \pm 1,5	0,8 \pm 1,0	1,4 \pm 0,5	3,0 \pm 1,1	2,9 \pm 0,8	3,9 \pm 0,8	3,5 \pm 0,5	2,3 \pm 0,5
Pós	4,8 \pm 1,6	2,0 \pm 1,8	1,1 \pm 1,0	4,3 \pm 1,3	4,1 \pm 0,8	5,1 \pm 1,1	5,3 \pm 1,0	3,9 \pm 0,8
p	0,014	0,030	0,277	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006
PEAK								
Pré	16	3	2	4	4	5	4	3
Pós	17	6	5	6	5	7	7	6

⁽¹⁾ Teste de Wilcoxon.

ANEXO 2- Planilhas referentes às medições pré e pós ciclagem dos grupos testados

Planilha 1 – Valores de fluorescência a laser do grupo controle, obtidos por meio do DIAGNOdent[®], da pré e pós ciclagem segundo os lados dos braquetes (n=25)

Controle	sup pré	sup pós	inf pré	inf pós	dir pré	dir pós	esq pré	esq pós
DENTE								
1	6	3	8	3	6	3	6	4
2	7	3	6	3	5	3	4	3
3	5	1	5	3	3	1	4	2
4	6	3	7	3	6	3	6	4
5	10	7	6	3	4	3	6	2
6	7	3	5	3	5	4	5	3
7	3	2	9	2	6	3	13	10
8	9	2	7	3	10	7	6	1
9	7	2	6	2	8	2	2	3
10	3	4	9	4	4	3	4	3
11	7	2	8	4	7	2	24	22
12	6	3	6	2	5	5	6	4
13	7	3	5	3	5	4	4	3
14	16	5	27	18	13	6	5	2
15	7	3	5	3	6	2	4	3
16	8	1	8	1	7	2	15	13
17	7	4	6	2	6	1	5	1
18	7	2	7	2	7	2	7	2
19	11	7	10	8	9	5	9	5
20	5	2	4	3	3	2	5	3
21	6	3	7	4	8	4	4	2
22	4	1	8	3	9	2	6	3
23	11	9	4	3	4	3	4	3
24	20	17	7	4	5	3	4	2
25	5	2	23	21	4	3	3	3

Planilha 2 – Valores de fluorescência a laser, obtidos por meio do DIAGNOdent[®], em função do tratamento do esmalte dentário com verniz fluoretado Duraphat, da pré e pós ciclagem segundo os lados dos braquetes (n=25)

Fluoreto	sup pré	sup pós	inf pré	inf pós	dir pré	dir pós	esq pré	esq pós
DENTE								
1	5	0	7	0	2	0	5	0
2	14	1	8	3	8	1	7	0
3	12	2	11	2	7	3	6	0
4	7	1	10	2	6	2	6	0
5	5	0	6	2	5	0	5	0
6	10	1	10	2	8	2	8	0
7	10	3	10	0	6	0	6	0
8	9	2	7	3	10	0	6	1
9	24	15	22	14	19	10	8	1
10	10	4	11	6	12	1	12	3
11	16	5	16	11	14	5	13	5
12	16	7	14	3	16	6	12	3
13	9	4	8	1	12	2	7	0
14	6	1	9	2	6	1	6	0
15	6	2	7	0	6	1	6	0
16	13	4	6	0	5	2	6	0
17	9	4	5	0	8	2	8	1
18	7	2	6	1	9	1	4	0
19	15	4	15	7	10	3	7	1
20	15	5	9	2	13	4	9	2
21	7	1	10	3	6	1	6	0
22	9	3	9	3	8	2	10	2
23	22	11	10	3	13	2	8	1
24	6	0	28	19	11	3	7	0
25	9	3	10	2	10	3	6	0

Planilha 3 – Valores de fluorescência a laser, obtidos por meio do DIAGNOdent[®], em função do tratamento do esmalte dentário com CPP-ACP, da pré e pós ciclagem segundo os lados dos braquetes (n=25)

CPP-ACP	sup pré	sup pós	inf pré	inf pós	dir pré	dir pós	esq pré	esq pós
DENTE								
1	9	1	14	2	6	0	14	3
2	25	3	19	0	7	1	19	1
3	8	2	8	3	6	0	8	3
4	11	0	12	2	17	3	10	0
5	7	3	14	3	8	1	11	2
6	9	3	12	0	6	2	4	0
7	8	2	11	1	6	0	4	0
8	9	2	8	3	8	0	8	2
9	12	2	13	3	10	1	7	1
10	18	5	8	3	9	1	8	1
11	7	1	7	2	7	1	6	1
12	13	1	7	0	13	0	10	2
13	9	0	10	2	6	0	6	0
14	14	0	14	0	9	1	8	2
15	8	1	13	1	8	2	7	1
16	7	3	19	7	12	3	4	0
17	12	1	10	2	5	0	6	0
18	7	0	6	1	7	1	2	0
19	1	0	5	1	1	0	3	0
20	6	0	4	0	4	0	4	0
21	3	0	3	0	2	0	2	0
22	7	1	14	0	5	0	6	0
23	15	9	13	3	4	0	3	0
24	13	2	6	0	8	1	7	0
25	5	0	4	0	3	0	3	0

Planilha 4 – Valores de fluorescência a laser, obtidos por meio do DIAGNOdent[®], em função do tratamento do esmalte dentário com CPP-ACPF, da pré e pós ciclagem segundo os lados dos braquetes (n=25)

CPP-ACPF	sup pré	sup pós	inf pré	inf pós	dir pré	dir pós	esq pré	esq pós
DENTE								
1	11	2	14	2	6	0	10	0
2	7	0	7	2	8	2	11	2
3	8	0	9	1	8	1	8	0
4	12	0	14	2	21	4	11	1
5	17	3	7	0	7	2	11	3
6	8	2	6	0	6	0	4	0
7	9	0	12	2	6	0	6	0
8	5	0	7	0	14	2	5	0
9	7	0	9	1	5	0	8	1
10	7	0	4	0	5	0	9	1
11	11	2	10	2	9	1	8	0
12	8	0	7	2	6	0	7	0
13	7	1	5	0	6	0	10	1
14	10	2	10	2	7	0	6	0
15	6	0	11	0	7	0	10	1
16	18	1	13	2	12	0	11	0
17	7	0	8	0	7	0	5	0
18	9	2	11	1	6	0	7	0
19	7	1	7	1	5	0	5	0
20	10	0	8	2	7	2	6	0
21	12	3	14	2	8	1	12	1
22	6	0	14	0	10	2	4	0
23	12	0	9	1	5	0	5	0
24	8	1	4	0	5	0	4	0
25	8	0	9	2	7	0	6	0