



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



ANA CAROLINA BOSCO MENDES

**UTILIZAÇÃO DE CASEÍNA FOSFATO DE CÁLCIO
AMORFO (CPP-ACP) SOBRE
LESÕES DE MANCHAS BRANCAS:
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Araraquara

2015



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



ANA CAROLINA BOSCO MENDES

UTILIZAÇÃO DE CASEÍNA FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO (CPP-ACP) SOBRE LESÕES DE MANCHAS BRANCAS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Odontopediatria, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do título de Mestre em Odontopediatria.

Orientadora: Profa. Dra. Angela Cristina Cilense Zuanon

Araraquara

2015

ANA CAROLINA BOSCO MENDES

UTILIZAÇÃO DE CASEÍNA FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO
(CPP---ACP) SOBRE LESÕES DE MANCHAS BRANCAS:
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientadora: Profa. Dra. Angela Cristina Cilense Zuanon

2º Examinador: Profa. Dra. Rita de Cássia Loiola Cordeiro

3º Examinador: Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto

Araraquara, 18 de março de 2015.

DADOS CURRICULARES

ANA CAROLINA BOSCO MENDES

NASCIMENTO: 03 de abril de 1989 – Botucatu – SP

FILIAÇÃO: Eliane Bosco Mendes e Washington Luiz Mendes

FORMAÇÃO

- | | |
|------------------|---|
| 1996/2003 | Ensino Fundamental (1º grau) - Colégio LA SALLE, Botucatu, SP, Brasil |
| 2004/2006 | Ensino Médio (2º grau) - Colégio LA SALLE, Botucatu, SP, Brasil |
| 2008/2012 | Graduação em Odontologia. - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, SP, Brasil |

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- | | |
|-------------------|---|
| 2009/ 2009 | Estágio de Iniciação Científica na Disciplina de Biostatística Metodologia Científica - Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP |
| 2009/2010 | Bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq na Disciplina de Biostatística Metodologia- Científica - Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP |
| 2011/ 2011 | Extensão universitária em Dentística Estética Integrada. – FUNDAÇÃO ARARAQUARENSE DE ENSINO E PESQUISA EM ODONTOLOGIA, Brasil |
| 2012/ 2012 | Extensão Universitária – Monitoria da Disciplina de Odontopediatria I - Faculdade de Odontologia de Araraquara |

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela vida, pela saúde e por me permitir estar aqui hoje, juntamente com as pessoas mais importantes.

Agradeço a Faculdade de Odontologia de Araraquara, minha casa nos últimos sete anos, aos funcionários que sempre se esforçam e fazem o seu melhor para esta instituição e a todos os docentes que dividem conosco um pouco do seu conhecimento, permitindo que nos tornemos não somente excelentes profissionais, como pessoas melhores, sabendo enxergar sempre além.

Em especial, agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Angela Cristina Cilense Zuanon, por todo conhecimento que dividiu comigo nos últimos anos, por toda compreensão, carinho e atenção.

Deixo aqui, também, meu muito obrigada a todos os pós-graduandos da Odontopediatria, que estão sempre dispostos a nos estender a mão quando precisamos, sem pedir nada em troca.

Agradeço aos meus pais, pois sem eles nada disso seria possível, agradeço por todos os ensinamentos, por todo amor e carinho, por me apoiarem nos momentos de dificuldade e brindarem as vitórias sempre ao meu lado. Agradeço ao meu irmão, um exemplo que levo, de esforço e determinação.

Agradeço aos meus avós, tias, primas e primos por estarem sempre caminhando comigo, mesmo que não possa vê-los.

Agradeço às minhas amigas, que estão ao meu lado nos momentos alegres e também nos mais difíceis, que estão sempre dispostas a escutar e que caminham ao meu lado, me apoiando em cada queda.

A todos que, de alguma forma, seja direta ou indiretamente, colaboraram para a minha formação, o meu muito obrigada.

*"Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível."*

Charles Chaplin

Mendes ACB. Utilização de Caseína Fosfato de Cálcio Amorfo (CPP-ACP) sobre lesões de manchas brancas: ensaio clínico randomizado [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2015.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do CPP-ACP na remineralização de lesões de manchas brancas em 80 dentes anteriores de crianças de 5 a 13 anos de idade, matriculadas nas escolas Municipais da cidade de Botucatu-SP. O estudo contou com 36 indivíduos divididos em 4 grupos experimentais: 1- controle (placebo); 2- flúor gel; 3- CPP-ACP; 4- CPP-ACP + flúor gel. Foram realizadas 2 aplicações dos referidos produtos por um examinador calibrado, com intervalo de uma semana entre estas. O acompanhamento das lesões foi realizado com o dispositivo DIAGNOdent Pen, antes da primeira aplicação, antes da segunda aplicação, depois de 1 mês e 3 meses da primeira aplicação. No estudo de intensidade de lesões foi aplicado o teste de Friedman e na comparação entre os grupos experimentais, o teste de Kruskal-Wallis. Essas análises foram complementadas pelo teste de Dunn e o nível de significância foi de 5%. Observou-se que ao final dos 90 dias de acompanhamento, o uso de CPP-ACP e de flúor tópico apresentou melhora na remineralização com semelhança estatística nos resultados. O melhor resultado na remineralização de lesões de manchas brancas foi observado quando associou-se o CPP-ACP ao flúor. Os autores concluíram que a utilização de CPP-ACP é uma boa alternativa para a remineralização de manchas brancas e que seu efeito pode ser ainda melhor quando associado ao flúor.

Palavras-chave: Esmalte Dentário, Fluoretos, Remineralização dentária

Mendes ACB. Use of casein amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) on white spots lesions: Randomized clinical trial [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2015.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the efficacy of CPP-ACP in remineralization of white spot lesions in 80 prior teeth of children aged 5-13 years old enrolled in public schools of the city of Botucatu -SP. The study counted on 36 individuals divided into 4 experimental groups: 1 control (placebo); 2- fluoride gel; CPP -ACP 3; 4- CPP-ACP + fluoride gel. Two applications were performed of such products by a calibrated examiner with a week of interval between these. The monitoring of the lesions was accomplished with the DIAGNOdent Pen Device, before the first application, before the second application, after 1 and 3 months of the first application. In study of the lesion intensity, the Friedman test was applied and for the comparison between experimental groups, Kruskal-Wallis test was applied. The analyses were complemented with the Dunn test and the level of significance was 5%. At the end of the 90-days trial, the use of CPP-ACP and fluoride showed improvement in remineralization with statistical similarity in the results. The best result in the white spots lesion remineralization was observed when CPP-ACP and fluoride were associated. Authors concluded that the use of the CPP-ACP is a good alternative for the remineralization of white spots lesions and that the effect can be improved when this product is used associated with fluoride.

Key-words: Dental enamel, Fluoride, Tooth remineralization

SUMÁRIO

1	Introdução.....	9
2	Revisão de literatura.....	12
3	Objetivo.....	24
4	Material e Método.....	25
5	Resultado	29
6	Discussão.....	31
7	Conclusão.....	35
	Referências.....	36
	Anexos.....	41
	• Anexo 1.....	41
	• Anexo 2.....	42
	• Anexo 3.....	43

1 INTRODUÇÃO

A cárie dental é uma doença que ainda acomete grande parte da população e apesar de sua incidência ter diminuído nas últimas décadas, ainda se trata de um problema de saúde pública em todo o mundo^{5, 31}. É causada principalmente pela má higiene bucal, dieta incorreta, entre outros fatores, os quais levam a formação da placa bacteriana. De acordo com Tenuta et al.³⁴ (2003), a formação da placa cariogênica é dependente de alterações dinâmicas na dieta, saliva, microbiota e fatores bioquímicos. Como resultado, há desequilíbrio do processo de desmineralização e remineralização levando ao desenvolvimento da doença cárie^{9, 43}.

Uma vez instalada, a lesão de cárie, presente inicialmente em esmalte, pode progredir, paralisar ou reverter dependendo do balanço entre os fatores patológicos (bactérias acidogênicas, alta frequência de ingestão de carboidratos fermentáveis, fluxo salivar reduzido) e os fatores protetores (composição e fluxo salivar, flúor, cálcio, fosfato, dieta não-cariogênica)⁹. Caso haja predomínio dos últimos, a lesão irá paralisar ou reverter, predominando assim o processo de remineralização, o qual depende da supersaturação de íons cálcio e fosfato no meio bucal para que os cristais de hidroxiapatita, componente inorgânico do esmalte, que foram dissolvidos durante a desmineralização, possam ser novamente formados⁴³. De acordo com Zhang et al.⁴³ (2011), reconstruir o tecido cariado a partir da própria hidroxiapatita é o melhor método para propiciar o processo de remineralização e quando há presença de íons flúor, este se dá por meio da formação de cristais de fluorapatita, os quais são ainda mais resistentes às possíveis desmineralizações.

Para cada dois íons flúor, são necessários dez íons cálcio e seis íons fosfato para formar uma única unidade de fluorapatita $(Ca_{10}(PO_4)_6F_2)^{24, 25}$. Durante a aplicação tópica de flúor, a disponibilidade de íons cálcio e fosfato pode ser o fator limitante para que a remineralização do esmalte ocorra²⁴.

O processo conhecido como desmineralização, ocorre quando há predomínio de bactérias cariogênicas no biofilme dental, as quais metabolizam carboidratos fermentáveis e produzem ácidos orgânicos que, por sua vez, tornam o pH intra bucal mais ácido levando a dissolução dos tecidos duros dentais. A saliva é capaz de reverter este processo em estágios iniciais, por meio da restauração do pH do biofilme dental, desde que também haja adequada higiene bucal².

O primeiro sinal clínico da desmineralização consiste na formação de manchas brancas³⁵, as quais são definidas como porosidades do esmalte e são clinicamente observadas como áreas brancas opacas e rugosas que tem como causa a perda de minerais^{6, 12}. As manchas brancas também comprometem a estética e, quando presentes, mesmo que passíveis de remineralização, podem ser clinicamente muito difíceis ou impossíveis de serem removidas¹².

Lesões de mancha branca podem ser precocemente diagnosticadas e tratadas por meio de intervenções minimamente invasivas, que promovem sua paralisação evitando-se tratamentos operatórios invasivos, gastos e incômodo para o paciente. De acordo com Ripa²⁶ (1988) e Weinsten et al.³⁷ (1994), se não tratadas, as manchas brancas podem evoluir para lesões cavitadas num período de 6 meses a 1 ano.

Embora por muito tempo tenha-se acreditado que a lesão de cárie, uma vez instalada, necessariamente terminaria em cavitações, os avanços científicos revelam que as lesões são reversíveis de acordo com mudanças ambientais¹⁰, tanto com relação aos hábitos dos indivíduos, quanto a utilização de novos produtos destinados a reparação do elemento dental.

O método mais utilizado na prevenção da lesão de cárie tem sido utilização do flúor^{31, 42}. Hoje, a caseína fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP), derivada da caseína, uma proteína do leite, eleita como nova opção no tratamento de lesões de manchas brancas, vem sendo pesquisada^{3, 15, 42}.

No passado, o uso clínico de cálcio e fosfato não obteve sucesso devido à baixa solubilidade do fosfato de cálcio na presença de flúor²⁵. Assim, foi adicionado aos íons

cálcio e fosfato (ACP–cálcio fosfato amorfo), o CPP (fosfopeptídeo de caseína), que resultou em um produto (CPP-ACP) que funciona como reservatório, estabilizador e distribuidor de altas concentrações de íons cálcio e fosfato, somados aos mesmos íons da superfície dental^{20, 24, 25, 35, 41}.

Quando o CPP-ACP entra em contato com o ambiente bucal, o CPP rapidamente se adere aos tecidos moles, biofilme e esmalte e libera íons cálcio e fosfato para o interior da placa bacteriana, para então difundirem nas regiões mais profundas das lesões de cárie^{8, 15, 29}.

Os produtos que contêm CPP-ACP são eficazes na remineralização de lesões iniciais de mancha branca em esmalte^{3, 8, 43}, e seu efeito é aumentado quando é utilizado concomitantemente com a aplicação de flúor^{8, 32, 33, 43}.

Embora vários estudos avaliem a eficácia do CPP-ACP ou do CPP-ACP + Flúor gel, ainda são escassos aqueles realizados in vivo e os que comparam os dois métodos na remineralização de manchas brancas por cárie.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Por meio de ensaio clínico randomizado, Autio-Gold, Courts⁵ (2001), avaliaram o efeito do verniz fluoretado sobre dentes decíduos cariados. O estudo contou com 2 grupos experimentais: Controle e Verniz (verniz fluoretado no início do estudo e após 4 meses). Após 9 meses do início do estudo, no grupo Verniz, 81,2% das lesões de esmalte ativas tornaram-se inativas, no grupo Controle, apenas 37,8% dessas lesões tornaram-se inativas. No grupo Verniz, 8,2% de todas as lesões ativas continuaram ativas, enquanto que no grupo Controle esse número subiu para 36,9%, sugerindo que a aplicação de verniz fluoretado pode ser eficaz na inativação de lesões de esmalte em dentes decíduos.

Em estudo in situ, Lagerweij, ten Cate¹⁶ (2002) determinaram o índice de remineralização que poderia ser conseguido com aplicações diárias de flúor em altas concentrações. Após 4 semanas de tratamento, os autores observaram que 54% das lesões de mancha branca regrediram no grupo que recebeu a aplicação diária de flúor gel (12500 ppm F) associada a escovação com pasta dental fluoretada (1450 ppm F) e que no grupo que realizou apenas a escovação com dentifrício fluoretado, a redução das manchas brancas foi de 44%, sem que esta diferença tenha sido estatisticamente significativa.

Tenuta et al.³⁴ (2003) avaliaram in situ a influência do fluxo salivar, capacidade tampão e contagem de *Streptococcus mutans* sobre o desenvolvimento de lesões de cárie, por meio de aplicação de sacarose a 20% sobre blocos de esmalte bovino e escovação com creme dental sem flúor. Após acompanhamento de 4, 7 e 10 dias, os autores observaram que a desmineralização do esmalte dependeu do tempo em que ocorreu o desafio cariogênico e está mais relacionada à composição do biofilme formado do que aos fatores salivares estudados.

Featherstone⁹ (2004), realizou revisão de literatura sobre o desenvolvimento da cárie dentária, destacando os fatores patológicos e protetores bem como as formas de intervir desde o início até a fase de cavitação da lesão. O autor observou que, se detectada precocemente e tratada, a doença é reversível.

Após avaliação de crianças com lesões de manchas brancas ativas e os possíveis fatores associados a esta alteração, Ferreira, Mendes¹⁰ (2005) observaram forte associação entre a presença de biofilme dental, altos índices de lesões cavitadas e de mancha branca ativas.

Em estudo clínico randomizado, Andersson et al.³ (2007), trataram, após remoção de aparelho ortodôntico fixo, 152 superfícies de manchas brancas ativas. Os protocolos de tratamento foram: A) aplicação tópica diária de creme dental contendo CPP-ACP por 3 meses seguido de mais um período de 3 meses de escovação diária com dentífrico fluoretado, e B) bochecho diário com solução de 0,05% NaF combinado com escovação com dentífrico fluoretado por 6 meses. Os registros de score visual e laser fluorescente foram realizados no início, depois de 1, 3, 6 e 12 meses. Os autores observaram diferença estatisticamente significativa no número de superfícies remineralizadas após 12 meses para o grupo A (63%) em relação ao grupo B (25%).

Jardim et al.¹⁴ (2008), compararam o efeito da aplicação tópica de flúor em alta concentração com o uso de dentífrico fluoretado in situ. Os voluntários realizaram escovação dental três vezes ao dia e, em metade dos espécimes, foram realizadas 4 aplicações tópicas de flúor com intervalo de 1 semana. Os autores observaram que após a terceira e a quarta aplicação de flúor gel tópico houve aumento da microdureza da superfície de esmalte e do conteúdo de flúor.

Após revisão de literatura de ensaios clínicos randomizados e controlados, Reynolds²⁴ (2008) observou que não há evidências científicas da eficácia anticariogênica da tecnologia EnamelonTM (combinação de ACP e fluoreto estânico estabilizado) e da tecnologia RecaldentTM (CPP-ACP) em retardar ou regredir o desenvolvimento de lesões de cárie. Concluiu que as tecnologias de remineralização baseadas em fosfato de cálcio são promissoras como tratamentos coadjuvantes à terapia de flúor na prevenção de lesões de cárie.

Reynolds²⁵ (2009), após nova revisão de literatura com ensaios clínicos randomizados, observou que o CPP-ACP mostrou reduzir o desenvolvimento de lesões de cárie em animais e inibir a desmineralização em esmalte e dentina tanto em estudo *in vitro* quanto *in vivo*. O autor concluiu mais uma vez que existem evidências para apoiar o uso clínico de CPP- ACP, como complemento ao tratamento de fluoreto em lesões de cárie iniciais.

Yengopal, Mickenautsch⁴¹ (2009), realizaram revisão sistemática com metanálise para responder a pergunta: "Será que CPP-ACP oferece benefício para a saúde bucal superior às outras intervenções?". Foram consultados sete bancos de dados eletrônicos, e doze artigos foram escolhidos após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão. Destes, cinco tratavam de aplicação de CPP-ACP a curto prazo *in situ* e, os demais, tratavam de ensaios clínicos randomizados a longo prazo. Os autores observaram efeito preventivo do produto no desenvolvimento de lesões de carie, e concluíram que mais estudos controlados são necessários para confirmar esses resultados *in vivo*.

All-Mullahi, Toumba² (2010), investigaram o efeito anticariogênico de um cimento de ionômero de vidro (CIV) de liberação lenta de flúor e de CPP-ACP, bem como do uso conjunto dos dois materiais. Oitenta blocos de esmalte bovino foram distribuídos em quatro grupos: A: CIV ; B: CPP-ACP e C: CIV + CPP-ACP; D: controle. Microdureza

superficial inicial e final foram medidas dos blocos de esmalte submetidos a um regime de ciclagem de pH por 10 dias. Os grupos A, B e C apresentaram microdureza significativamente maior do que o grupo controle. Não houve diferença significativa entre os grupos A e B, pois ambos não apresentaram melhoras estatisticamente significativas na microdureza do esmalte em comparação ao grupo C.

Altenburger et al.⁴ (2010), concluíram que o uso diário de CPP-ACP com dentífrico fluoretado mostrou melhora significativa na remineralização de manchas brancas a partir de 15 dias de uso. O estudo contou com 32 voluntários cujos molares e pré-molares apresentavam valor numérico entre 15 e 20 indicado pelo DIAGNOdent Pen. Um grupo realizou a higiene bucal com creme dental com 1.450 ppm de flúor e aplicou uma pasta contendo CPP-ACP nas áreas com lesões de manchas brancas. O outro grupo (controle) apenas realizou a higiene oral com o mesmo creme dental. Enquanto o grupo controle não apresentou mudanças significativas, o grupo experimental apresentou valores significativamente menores apresentados pelo DIAGNOdent Pen (dias 1, 8, 15 e 22).

Beerens et al.⁶ (2010), avaliaram manchas brancas múltiplas observadas após remoção de brackets ortodônticos de 54 pacientes, os quais foram distribuídos em dois grupos experimentais: A- tratado com pasta contendo CPP-ACP e B- com a pasta placebo (controle). Os pacientes foram acompanhados durante 3 meses por meio de imagens captadas com auxílio do dispositivo QLF, no início, após 6 semanas e após 12 semanas. Foi observada perda de fluorescência significativa em ambos os grupos. Os autores concluíram que não houve vantagem clínica com uso do CPP-ACP no período de 12 semanas.

Com o objetivo de verificar a ação de CPP-ACP e CPP-ACP associado ao flúor na remineralização de manchas brancas em curto período de tempo, Ogata et al.²⁰ (2010), submeteram vinte e oito placas de esmalte bovino à ciclos de pH por 4 dias, e logo após o final de todos ciclos, aplicaram diariamente por 30 minutos, pastas contendo CPP-

ACP e/ou fluoreto de sódio (NaF). No grupo tratado apenas com NaF, perda de tecido na superfície de esmalte foi observada. Por outro lado, no grupo tratado com mistura de NaF e CPP-ACP, esta perda não foi observada. Os autores concluíram que CPP-ACP tem a capacidade de manter a superfície do esmalte e que o uso combinado deste com NaF reduz ainda mais a desmineralização.

Em estudo com uso de CPP-ACP, Srinivasan et al.³² (2010), encontraram aumento significativo de remineralização de manchas brancas e que a sua combinação com o flúor aumentou ainda mais esse potencial. Dispositivos intra-orais contendo 45 espécimes de esmalte, passaram por 3 diferentes protocolos de remineralização. O grupo I recebeu tratamento com a pasta contendo CPP-ACP, o grupo II, pasta contendo CPP-ACP com 900ppm de flúor e o grupo III foi o grupo controle. Por meio da análise de dureza Vickers, observou-se que, o grupo I apresentou aumento de microdureza de 46,24%, o grupo II de 64,25%, e no grupo III o aumento foi de apenas 2,98%.

Uysal et al.³⁵ (2010) avaliaram in vivo os efeitos de um composto de cálcio e fosfato amorfo ortodôntico na redução da desmineralização do esmalte ao redor de braquetes ortodônticos. O grupo 1 recebeu a colagem do braquete com a utilização do composto de cálcio e fosfato amorfo e o grupo controle, com um composto à base de resina ortodôntica. Os dentes foram extraídos após 30 dias e foi analisada a microdureza. Observaram que o composto de cálcio e fosfato amorfo ortodôntico foi significativamente mais eficaz do que o controle na redução da desmineralização do esmalte.

Jayarajan et al.¹⁵ (2011) também concluíram que o uso de CPP-ACP resulta em melhora na taxa de remineralização das lesões de mancha branca, e que esse efeito se torna ainda melhor quando utilizado concomitantemente com o flúor. Foram utilizados 90 pré-molares divididos em 3 grupos experimentais (n=30). O grupo I foi o grupo controle, o grupo II recebeu tratamento com CPP-ACP e o grupo III recebeu tratamento com CPP-ACP

associado ao Flúor. Foram realizadas leituras com auxílio do DIAGNOdent Pen no início do estudo, após a desmineralização e após a remineralização. Observou-se que o grupo II e III apresentaram aumento significativo da taxa de remineralização, sendo o grupo III o que apresentou melhores resultados.

Em estudo clínico randomizado com 60 pacientes em tratamento ortodôntico, Robertson et al.²⁷ (2011), observaram que o uso de CPP-ACP + flúor ajudou significativamente na prevenção do desenvolvimento de novas lesões de mancha branca além de diminuir o número de lesões de manchas brancas ativas já presentes, tornando-as inativas.

Durante 10 dias, Shen et al.²⁹ (2011), estudaram espécimes de esmalte com lesões de manchas brancas in situ divididos em 6 grupos. O grupo I: placebo, grupo II: 1000 ppm de Flúor, grupo III: 5000 ppm de flúor, grupo IV: CPP-ACP, grupo V: CPP-ACP + flúor e o grupo VI: Clinpro com 950 ppm de Flúor. Os níveis de íons flúor, cálcio e fosfato salivares foram mensurados utilizando cromatografia, e o conteúdo mineral, por meio de microrradiografias. Somente os grupos que receberam CPP-ACP e CPP-ACP associado ao Flúor apresentaram aumento significativo dos níveis destes elementos.

Tehrani et al.³³ (2011) avaliaram a eficácia de CPP-ACP e do flúor em reduzir as taxas de erosão do esmalte dentário. O estudo contou com 4 grupos experimentais: 1- CPP-ACP, 2- flúor, 3- CPP-ACP associado ao flúor e 4- controle. Após desgaste, os espécimes foram submetidos aos tratamentos. Observaram maior taxa de desgaste no grupo controle. Os autores concluíram que tanto o CPP-ACP quanto o flúor podem proteger o esmalte, e que quando combinados proporcionam maior redução do desgaste.

Zhang et al.⁴³ (2011), em estudo in vitro, utilizaram espécimes de esmalte de dentes decíduos com lesões de cárie artificiais que foram aleatoriamente divididas em 3

grupos. Grupo A: água destilada e deionizada (controle negativo); grupo B: pasta contendo CPP-ACP; e o grupo C: 500ppm de solução NaF (controle positivo). A microdureza da superfície de esmalte foi medida antes da desmineralização, logo após e 30 dias após a desmineralização. O grupo B apresentou aumento da microdureza do esmalte cariado significativamente maior do que o grupo C, demonstrando que CPP-ACP é efetivo na remineralização das lesões de esmalte de dentes decíduos.

Calvo et al.⁷ (2012), em estudo in situ, avaliaram esmalte de dentes permanentes e decíduos, submetidos aos seguintes tratamentos: sem aplicação de flúor (controle negativo) ou aplicação de flúor gel tópico (1,23% F) nos períodos de 1 e 4 minutos. O flúor gel tópico reduziu a desmineralização em ambos os tipos de esmalte e a diferença entre 1 e 4 minutos não foi estatisticamente significativa. Os resultados sugerem que 1 minuto de aplicação de Flúor gel tópico proporciona efeito semelhante comparado a 4 minutos para ambas as dentições.

Cochrane, Reynolds⁸ (2012), realizaram revisão de literatura em busca de evidências científicas sobre a forma de ação de CPP-ACP na remineralização de lesões de manchas brancas. Encontraram evidências que fosfopeptídeos são resíduos de ácidos encontrados na natureza que ajudam a prevenir a precipitação do fosfato de cálcio sólido. A fosfoserina, em particular, interage com o cálcio e estabiliza os íons cálcio e fosfato. Quando modificado enzimaticamente, por meio de purificação e ultrafiltração, o leite libera fosfopeptídeos de caseína, que são capazes de estabilizar altas concentrações de íons cálcio e fosfato.

Após um ano de avaliação da utilização de uma pasta contendo CPP-ACP (10%) complementar a higiene oral com dentifrício fluoretado, Sitthisettapong et al.³¹ (2012), seguindo o critério ICDAS (início, 6 meses e 1 ano), observaram aumento significativo do número médio de lesões de cárie em esmalte e dentina. Concluíram que a utilização diária

de dentifrício fluoretado contendo 10% de CPP-ACP não demonstrou melhoras no controle do desenvolvimento de lesões de cárie na dentição decídua.

Wang et al.³⁸ (2012), em estudo clínico de 6 meses, concluíram que o uso diário de CPP-ACP contribuiu na melhora da taxa de remineralização das lesões de manchas brancas em 40 pacientes ortodônticos.

Huang et al.¹² (2013), avaliaram 135 pacientes que realizaram tratamento ortodôntico e que tinham, ao menos, 1 lesão de mancha branca em incisivo superior. Os pacientes foram divididos em 3 grupos: 1- Recaldent (CPP-ACP- aplicação caseira diária), 2- PreviDent (verniz fluoretado– uma aplicação no início do estudo) e 3- controle. Em 8 semanas de acompanhamento por meio de fotografias, os autores não encontraram diferença significativa na eficácia do Recaldent ou do PreviDent quando comparado a higiene bucal padrão para melhorar a aparência de lesões de mancha branca de cárie.

Pukallus et al.²³ (2013), investigaram a eficácia de uma pasta com 10% de CPP-ACP em prevenir cárie precoce na infância. As crianças do grupo experimental receberam a aplicação da pasta uma vez ao dia (n=102) e o grupo controle não recebeu nenhum produto (n=89), a partir da erupção primeiro dente. Os responsáveis por cada criança foram instruídos a escovar os dentes de seus filhos duas vezes por dia com um creme dental com baixa concentração de flúor. Após 24 meses, os autores observaram que das crianças que receberam pasta contendo 10% de CPP-ACP, apenas uma apresentou lesões de cárie, enquanto que no grupo controle o número foi de 58 crianças com lesões de cárie presentes.

Vanichvatana, Auychai³⁶ (2013), realizaram estudo in situ para comparar a eficácia de duas pastas contendo fosfato de cálcio e um creme dental fluoretado na remineralização de cárie artificial. O estudo envolveu 3 fases de 14 dias cada e 3 grupos

experimentais, sendo grupo A: escovação com 1,0 g de Colgate Flavor Regular seguida por aplicação de pasta contendo CPP-ACP; grupo B: escovação com 0,25 g de Clinpro Tooth Creme e grupo C: escovação com 1,0 g de Colgate Flavor Regular. Pode-se observar que todos os grupos experimentais mostraram redução significativa na área de lesão e que não houve diferença estatística entre os mesmos. Os autores concluíram que nenhum benefício adicional foi observado quando utilizado CPP-ACP conjuntamente a escovação diária com pasta dental fluoretada.

Alencar et al.¹ (2014), em estudo in situ, avaliaram o efeito de goma de mascar contendo CPP-ACP sobre lesões de manchas brancas. Setenta e dois blocos de esmalte humano foram aleatoriamente distribuídos em três grupos: I- goma de mascar com CPP-ACP, II- apenas goma de mascar e III- sem goma de mascar. Voluntários utilizaram dispositivos intra-orais por 24 horas. Nos grupos I e II mastigou-se a goma durante 30 minutos, por quatro vezes com intervalo de 4 horas. Em cada fase, após 2 horas, a dureza superficial foi avaliada. Os autores observaram aumento da dureza do esmalte nos grupos I e II, sendo esse efeito mais expressivo no grupo I.

Em revisão sistemática de literatura, Li et al.¹⁷ (2014), avaliaram o efeito remineralizador de CPP-ACP sobre lesões de cárie em esmalte. Coletaram dados do PubMed, Web of Science, Embase, Cochrane - Central, Science Direct, CBM e CNKI. Foram incluídos ensaios clínicos randomizados ou quase-randomizados em Inglês e Chinês. Dos 738 estudos selecionados, 83 estudos foram revisados e 8 selecionados para inclusão na amostra. O período de acompanhamento dos estudos incluídos variou de 3 a 24 meses. O efeito remineralizador de CPP-ACP se mostrou mais efetivo em comparação ao placebo e não foi encontrado nenhum efeito colateral específico. Conclui-se também que, embora o CPP-ACP tenha efeito remineralizador sobre lesões de cárie iniciais, isto não parece ser significativamente diferente da prevenção obtida por meio da utilização de fluoretos. A vantagem da utilização de CPP-ACP, como um suplemento para os produtos contendo flúor

é ainda pouco claro. Os autores sugerem que estudos clínicos bem delineados nesta área ainda são necessários antes que recomendações definitivas possam ser feitas.

Em estudo *in vitro*, Oliveira et al.²¹ (2014), compararam, após 30 dias, o efeito remineralizador do CPP-ACP associado ao creme dental contendo 5000 ppm de flúor (F5000) e CPP-ACP associado a 900 ppm de flúor, como métodos de controle de lesões de manchas brancas induzidas artificialmente. Tanto a perda de fluorescência como a área das lesões foram analisadas por meio do dispositivo QLF no início e após o tratamento. Os autores observaram que o grupo que utilizou CPP-ACP associado ao creme dental contendo 5000ppm de flúor (F5000) demonstrou maior taxa de remineralização sem apresentar diferença em relação a realização apenas da escovação com dentifrício fluoretado, após 30 dias.

Pithon et al.²² (2014), avaliaram a eficiência da aplicação de vernizes contendo CPP-ACP na prevenção de lesões de cárie. Braquetes ortodônticos foram colados na superfície vestibular de incisivos bovinos e divididos em oito grupos: I- escovação somente (controle); II- escovação associada uso de enxaguante bucal com flúor ; III- aplicação de verniz fluoretado ; IV- aplicação de verniz fluoretado associado a escovação; V- aplicação de verniz fluoretado associado a escovação e ao uso de enxaguante bucal com flúor; VI- CPP-ACP; VII- CPP-ACP associado a escovação e VIII- CPP-ACP associado a escovação e ao uso de enxaguante bucal com flúor. Em cada grupo, foram realizados exames para análise de área e profundidade da lesão da mancha branca. Os grupos I e III mostraram diferença estatisticamente significativas comparados aos grupos V, VI, VII e VIII. O CPP-ACP mostrou-se mais eficaz em diminuir a profundidade da lesão de cárie em comparação ao verniz fluoretado, independentemente de estarem associados a escovação e ao uso de enxaguante bucal.

Shetty et al.³⁰ (2014), estudaram a remineralização do esmalte após

tratamento com CPP-ACP, CPP-ACP associado ao flúor e apenas fluoreto de sódio. O controle positivo consistiu em esmalte hígido e o controle negativo em esmalte desmineralizado artificialmente. Os autores observaram que a melhor taxa de remineralização foi apresentada pelo grupo tratado com CPP-ACP associado ao flúor.

Wiegand, Attin³⁹ (2014), analisaram o efeito do leite (com ou sem 5 ppm de F) e pastas contendo CPP- ACP (com ou sem 900 ppm F) sobre a erosão dental. Quinze voluntários participaram do estudo fazendo uso de aparelhos intra-orais com espécimes de esmalte e dentina. Os autores observaram que o leite e o creme contendo CPP-ACP não foram eficazes na redução da taxa de desmineralização de esmalte e dentina, independente da presença de flúor.

Em estudo in vivo, de Yazicioglu, Ulukapi⁴⁰ (2014), trataram lesões proximais não cavitadas utilizando métodos não-invasivos. Avaliaram molares e pré-molares com cáries proximais por meio de exame visual, radiográfico e com o aparelho DIAGNOdent. O estudo contou com os grupos controle, ozônio, flúor gel acidulado e agente de ligação bacteriano tratados por 18 meses. As avaliações foram realizadas no 1º, 3º, 6º, 12º e 18º meses de acompanhamento. Ao final dos 18 meses, as lesões de cárie no grupo controle progrediram, sendo que nos demais grupos permaneceram estáveis.

Yuan et al.⁴² (2014), compararam melhorias estéticas de lesões de mancha branca induzidas artificialmente e tratadas de acordo com os grupos experimentais: NaF (500 ppm), CPP-ACP, resina composta e água destilada (grupo controle). A mudança de cor foi medida com auxílio de espectrofotômetro e perda de fluorescência por meio de QLF em diferentes tempos: início, 2, 4 e 6 semanas. Os valores para os quatro grupos não apresentavam diferença significativa antes dos tratamentos. O grupo tratado com resina composta demonstrou melhora de cor significativa e menor perda de fluorescência. Nos grupos NaF e CPP-ACP, a medida de fluorescência demonstrou remineralização

significativa em comparação aos valores iniciais somente após 4 semanas de tratamento. Os autores concluíram que para melhorar a estética de lesões de manchas brancas a melhor opção é a utilização de resina composta.

Em estudo *in vitro*, Zhou et al.⁴⁴ (2014), avaliaram os efeitos da remineralização de lesões de mancha branca de acordo com os seguintes grupos experimentais: I- esmalte hígido ; II- água (controle negativo) ; III- 500 ppm de NaF (controle positivo) ; IV- CPP-ACP por 4 horas; V- CPP-ACP por 8 horas; VI- CPP-ACP por 12 horas; e VII- CPP-ACP por 24 horas. Foram medidas a rugosidade superficial, nanodureza e módulo de elasticidade. Pode-se observar que a pasta contendo CPP-ACP reparou a microestrutura do esmalte por meio de aumento significativo do tamanho dos cristais de hidroxiapatita em comparação com NaF. Tanto o CPP-ACP quanto o NaF diminuíram a rugosidade e aumentaram a nanodureza e o módulo de elasticidade. Os autores concluíram que a pasta CPP-ACP é mais adequada para as crianças do que o NaF, quando considera-se seu poder remineralizador.

3 OBJETIVO

Avaliar a eficácia do CPP-ACP na remineralização de lesões de manchas brancas.

Objetivos específicos

Avaliar a eficácia do CPP-ACP comparado ao flúor gel na remineralização de lesões de manchas brancas.

Avaliar a eficácia do CPP-ACP associado ao flúor gel na remineralização de lesões de manchas brancas.

4 MATERIAL E MÉTODO

Foram analisadas as dentições de 4.046 crianças de 5 a 13 anos de idade, matriculadas no Ensino Fundamental I de 12 escolas municipais da cidade de Botucatu, localizada no Centro Sul do Estado de São Paulo. Botucatu possui 127.328 habitantes segundo o último censo realizado pelo IBGE¹³ e água de abastecimento público com 0,9 ppm de flúor desde 1982²⁸. Para a realização deste estudo, foram obtidas autorizações da Secretaria da Saúde, da Secretaria da Educação da cidade, aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FOAr (537.594) e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos responsáveis dos menores (Anexo 1).

Os critérios de inclusão dos participantes foram: crianças matriculadas na rede pública do Ensino Fundamental I da cidade de Botucatu (SP), com lesões de manchas brancas ativas sem cavitação em dentes anteriores permanentes e que os responsáveis assinassem o TCLE.

Os critérios de inclusão dos dentes foram: ausência de hipomineralização, hipoplasias, trincas, defeitos de forma, alterações de cor, fluorose, lesões de cárie cavitadas, presença de lesões de manchas brancas que apresentassem score numérico igual ou maior que 14 fornecidas pelo DIAGNOdent Pen (KaVo DIAGNOdent Pen 2190, KaVo, Charlotte-NC, EUA) e estar de acordo com o código Nyvad¹⁹ 1 ou 2 (Anexo 3).

Os critérios de exclusão das crianças consistiam naquelas não residentes na cidade de Botucatu (SP), que faziam uso de aparelhos ortodônticos fixos, de medicamentos de maneira crônica que pudessem causar xerostomia ou manchamentos nos dentes ou que possuíam intolerância a lactose.

Das 4.046 crianças avaliadas, 45 preenchiem todos os requisitos para inclusão. Destas, 37 crianças entregaram o TCLE devidamente preenchido e 1 não completou o período de acompanhamento, resultando em 36 crianças inclusas no estudo. A unidade experimental adotada foi o dente. Assim, as 36 crianças que participaram do estudo

somaram o total de 80 dentes tratados e acompanhados. Quando a criança possuía mais de um dente anterior com lesão de mancha branca ativa, o mesmo tratamento era aplicado para todos os dentes, visando evitar o efeito cruzado dos diferentes materiais.

Um pesquisador (A) (Quadro 2), treinado e calibrado, realizou anamnese abordando os dados pessoais da criança, e logo após, portando máscara, luvas, gorro e jaleco realizou exame clínico dental com auxílio de luz ambiente e espátulas de madeira, após entrega de kit para higiene bucal, escovação supervisionada e instruções de higiene bucal. Foi utilizado o equipamento DIAGNOdent Pen para coleta numérica de desmineralização anotadas em ficha própria (Anexo 2) e o critério Nyvad¹⁹ para a classificação das lesões.

As crianças receberam instruções de higiene oral, passaram por escovação supervisionada e foram, então, alocadas aleatoriamente, por meio de sorteio, antes da aplicação dos tratamentos nos grupos: 1- controle; 2- flúor gel; 3- CPP-ACP; 4- CPP-ACP + flúor.

O grupo 1 recebeu aplicação de pasta placebo diretamente sobre as manchas brancas por 1 minuto. O grupo 2 recebeu flúor gel tópico (Fluoreto Fosfatado Acidulado 1,23% - DFL, Jacarepaguá-RJ) diretamente sobre as manchas brancas por 1 minuto⁷. Ao grupo 3 foi aplicado Recaldent (GC Tooth Mousse, Tokyo, Japão) sobre as manchas brancas. O grupo 4 recebeu a aplicação de uma pasta que contém CPP-ACP e flúor 0.2% (GC Tooth Mousse Plus, Tokyo, Japão) sobre as manchas brancas. Para os grupos 1 e 2 foi utilizada gaze estéril para a remoção dos produtos aplicados. Para os grupos 3 e 4 os produtos foram mantidos sobre a superfície dental, de acordo com a recomendação do fabricante.

Previamente a aplicação dos produtos, foi realizada secagem do elemento dentário com gaze estéril e as aplicações foram realizadas com auxílio de Microbrush (KGBrush, KG Sorensen, Cotia-SP). As crianças receberam instrução de manter jejum por 30 minutos após a aplicação dos produtos.

Os grupos experimentais, os produtos, bem como sua forma de aplicação, encontram-se no Quadro 1.

Quadro 1 - Grupos experimentais, produtos e forma de aplicação.

GRUPO	PRODUTO	APLICAÇÃO
1	Placebo	1 minuto seguido de remoção
2	Flúor gel 1,23%	1 minuto seguido de remoção
3	Recaldent (CPP-ACP)	Sem necessidade de remoção
4	Recaldent Plus (CPP-ACP + flúor 0,2%)	Sem necessidade de remoção

Foram realizadas 2 aplicações⁵ dos produtos com intervalo de 1 semana entre as mesmas pelo pesquisador B, previamente calibrado em relação ao protocolo de aplicação.

O dispositivo DIAGNOdent Pen atua por meio de fluorescência e fornece um score da gravidade da lesão. Para a sua utilização é necessária calibração realizada seguindo orientações do fabricante, conforme ilustra a Figura 1.

Figura 1 - Calibração do dispositivo DIAGNOdent Pen

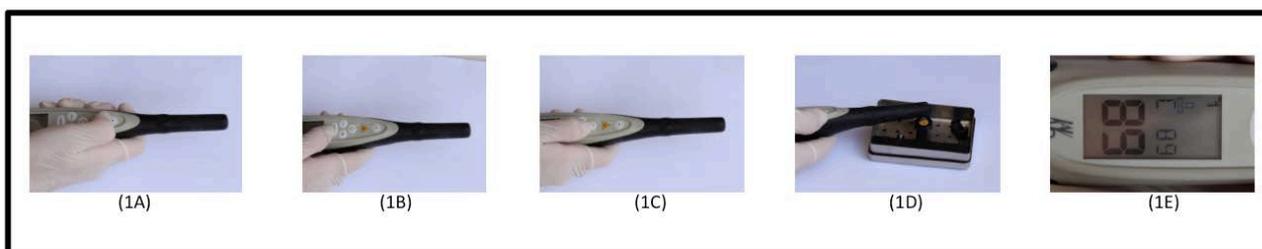


Figura 1A - liga o aparelho

Figura 1B - menu

Figura 1C - memória

Figura 1D - superfície de referência (para calibração)

Figura 1E- valor 89 (valor de referência) pré ajustado ao aparelho

Foi realizado o teste de Kappa intraexaminador, obtendo-se concordância entre as leituras considerada boa ($K_p = 0,73$). As leituras foram realizadas antes da primeira

aplicação, antes da segunda aplicação, depois de um mês e três meses da primeira aplicação pelo mesmo examinador (pesquisador A).

Quadro 2 - Procedimentos realizados pelos Examinadores A e B.

PROCEDIMENTOS	EXAMINADORES
Exame clínico	Pesquisador A
Primeira leitura (inicial)	Pesquisador A
Primeira aplicação produto (inicial)	Pesquisador B
Segunda leitura (8 dias)	Pesquisador A
Segunda aplicação produto (8 dias)	Pesquisador B
Terceira Leitura (30 dias)	Pesquisador A
Quarta Leitura (90 dias)	Pesquisador A

No estudo de intensidade de lesões foi aplicado o teste de Friedman na comparação entre tempos de acompanhamento, e o teste de Kruskal-Wallis na comparação entre os grupos experimentais. Essas análises foram complementadas por comparações múltiplas de postos médios pelo teste de Dunn. Adotou-se o nível de significância de 5% para a tomada de decisão.

5 RESULTADO

Na Tabela 1 estão apresentadas as medianas, primeiros e terceiros quartis de intensidade da lesão em função de fluorescência determinada pelo DIAGNOdent Pen, de acordo com os grupos experimentais e os tempos de acompanhamento.

Tabela 1 – Mediana (1º quartil; 3º quartil) de intensidade de lesão em função do tempo de acompanhamento.

Grupo	Tempo de Acompanhamento (dias)			
	0	8	30	90
1	18 (15; 29) ^{Ab}	22 (13; 26) ^{Ab}	16 (12; 26) ^{BCab}	14 (7; 19) ^{ABa}
2	19 (16; 25) ^{Ac}	11 (6; 21) ^{Abc}	6 (4; 11) ^{Aa}	14 (6; 18) ^{ABab}
3	21 (14; 26) ^{Ab}	16 (15; 23) ^{Aa}	19 (14; 26) ^{Ca}	18 (13; 24) ^{Ba}
4	19 (17; 23) ^{Ac}	12 (9; 20) ^{Abc}	8 (5; 12) ^{ABab}	5 (4; 10) ^{Aa}

Letras maiúsculas iguais nas colunas indicam não haver diferença estatisticamente significativa. Letras minúsculas iguais nas linhas indicam não haver diferença estatisticamente significativa.

O teste de Kruskal-Wallis identificou diferença significativa entre grupos, quanto à intensidade de lesão somente após 30 dias de acompanhamento, quando observou-se valores menores de intensidade de lesão para os grupos 2 e 4. Após 90 dias o grupo 4 manteve valor menor de intensidade de lesão, sem diferença estatística para os grupos 1 e 2, enquanto o grupo 3 apresentou o maior valor de desmineralização.

Em relação ao tempo de acompanhamento, para todos os grupos houve tendência de diminuição da intensidade de lesão no final do período, com maior relevância para o grupo 4.

O teste de Friedman acusou diferença de intensidade de lesão no decorrer de todo o tempo de acompanhamento. Para o grupo 4, pelo menos metade dos dentes tratados apresentaram intensidade 5, valor correspondente a dentes hígidos, valor significativamente

menor do que o inicial. Pode-se observar que 3º quartil igual a 10 indica que pelo menos 75% dos dentes apresentaram-se hígidos.

O grupo 1 apresentou diminuição da taxa de desmineralização aos 30 dias, a qual continuou a decair aos 90 dias de acompanhamento. O grupo 2 também demonstrou melhora significativa no grau de desmineralização aos 8 e aos 30 dias. Aos 90 dias, porém, o grupo mostrou aumento na taxa de desmineralização. O grupo 3 apresentou melhora estatisticamente significativa aos 8 dias, a qual se manteve constante nos demais tempos de acompanhamentos.

6 DISCUSSÃO

Embora a incidência da doença cárie tenha diminuído³¹, muitos esforços são despendidos para a sua prevenção. Hoje, com predomínio e destaque da Odontologia Preventiva e minimamente invasiva, estes esforços concentram-se também no tratamento voltado para a paralisação ou reversão de lesões de cárie em estágios iniciais.

O primeiro sinal clínico da lesão de cárie é clinicamente observado como uma área branca e opaca¹², a qual se trata de porosidades no esmalte causada pelo desequilíbrio no processo de desmineralização e remineralização (Des-Re)⁶.

Para que seja possível a paralisação do desenvolvimento da lesão de cárie logo no seu início, clínicos e pesquisadores fazem uso de produtos que possam favorecer o processo de remineralização, sendo o flúor o mais utilizado. Porém, para que haja a remineralização do esmalte por meio da formação de cristais de fluorapatita, é necessário que, além dos íons flúor, íons cálcio e fosfato estejam disponíveis. Assim, estudos realizados visando favorecer a presença dos íons cálcio e fosfato durante o processo de Des-Re, resultaram no produto Recaldent (CPP-ACP), derivado da caseína, uma proteína do leite^{1, 2, 4, 6, 12, 15, 17, 20-25, 27, 30-33, 36, 38, 41, 43, 44}.

O CPP-ACP pode ser utilizado para introduzir grandes concentrações de íons cálcio e fosfato no ambiente bucal⁸, e estabilizá-los juntamente com os íons flúor na superfície dental. O mecanismo de ação do CPP-ACP promove a inibição da desmineralização do esmalte e melhora a remineralização²⁵.

Uma vez que o CPP-ACP entra em contato com a cavidade bucal, se adere a placa bacteriana e penetra no interior da lesão de cárie, seja como um complexo intacto ou pela liberação de íons cálcio e fosfato pelo CPP. O CPP se liga então as faces do cristais de apatita na superfície da lesão e deixa um caminho de difusão aberto permitindo que os íons penetrem mais profundamente no interior da lesão, resultando assim, em uma remineralização do corpo da lesão e não somente da sua superfície⁸.

Assim, ao utilizar o CPP-ACP, bem com o CPP-ACP associado ao flúor, este estudo observou que o grupo 1 apresentou diminuição estatisticamente significativa no grau de desmineralização a partir de 30 dias após a primeira aplicação do produto, provavelmente como resultado dos esforços dos pesquisadores em oferecer instruções de higiene bucal durante todo o período do estudo, buscando a motivação e educação das crianças para a promoção de saúde bucal. Vanichvatana, Auychai³⁶ (2013), em estudo in situ, observaram nenhum benefício adicional quando da utilização de CPP-ACP conjuntamente a escovação diária com pasta dental fluoretada. Wiegand, Attin³⁹ (2014), relataram que o CPP-ACP não foi eficaz na redução da desmineralização.

O grupo 2 apresentou diminuição no grau de desmineralização já aos 8 dias após a primeira aplicação, diminuiu ainda mais após 30 dias e voltou a apresentar um discreto aumento no grau de desmineralização aos 90 dias. Jardim et al.¹⁴ (2008) em estudo in situ concluiu que ainda há necessidade de pesquisas sobre o intervalo de tempo apropriado para conseguir bons resultados a partir da aplicação tópica de flúor. Com uso de dentifrício fluoretado associado ou não a aplicações tópicas de flúor por quatro semanas, Lagerweij, ten Cate¹⁶ (2002) observaram redução de 44% das lesões a partir do uso do dentifrício fluoretado, enquanto que 54% foi observado após sua associação com flúor gel.

O estudo que mostrou boa taxa de remineralização com a utilização de flúor foi realizado em apenas 2 semanas (Mellberg¹⁸, 1991). Outro estudo in situ de Goorhuis, Purdell-Lewis¹¹ (1986) utilizando a aplicação diária de flúor gel tópico, mostrou uma melhor taxa de remineralização após 9 dias (5% por dia) e essa taxa caiu após 3 semanas (2,2% por dia). Diante deste resultados, observa-se que a taxa de remineralização das lesões é maior nas primeiras semanas de aplicação, diminuindo a partir de um período ainda não determinado pela literatura, havendo necessidade de maiores estudos nessa área.

Com a utilização do CPP-ACP, já aos 8 dias após a primeira aplicação, o grupo 3 apresentou diminuição significativa no grau de desmineralização, a qual manteve-se aos 30 e 90 dias. Este achado corrobora Yengopal, Mickenautsch⁴¹ (2009) os quais, após revisão sistemática com estudos in situ, concluíram haver efeito remineralizador de CPP-

ACP em curto período de tempo. Esta mesma revisão sistemática com metanálise baseada em sete estudos clínicos controlados randomizados, sugeriu que o uso clínico de CPP-ACP em longo prazo tem efeito de prevenção de cárie, fato não constatado no presente trabalho, uma vez que foi desenvolvido em apenas 90 dias de acompanhamento e realizadas apenas duas aplicações de CPP-ACP.

Altenburger et al.⁴ (2010), observou que o uso diário de CPP-ACP complementar a higiene oral com dentifrício fluoretado proporciona melhora significativa das manchas brancas a partir de 15 dias de uso. Da mesma forma, Wang et al.³⁸ (2012) concluíram que o uso diário de CPP-ACP complementar a higiene oral, contribuiu na melhora da taxa de remineralização das lesões de manchas brancas. Zhou et al.⁴⁴ (2014) e Zhang et al.⁴³ (2011), também observaram em estudo in vitro que a pasta contendo CPP-ACP aumentou significativamente a microdureza do esmalte decíduo desmineralizado quando comparado à solução de NaF 500 ppm, apontando efeito positivo em sua utilização na prevenção de lesões de cárie. Paralisação da progressão da lesão de cárie com o uso de CPP-ACP também foi observada por Yazicioglu, Ulukapi⁴⁰ (2014).

Pukallus et al.²³ (2013), encontraram também grande eficácia do CPP-ACP na prevenção de cárie precoce na primeira infância a partir de sua utilização associada a creme dental com baixa concentração de flúor.

Sitthisetpong et al.³¹ (2012) porém, em estudo clínico realizado durante um ano, observaram que a aplicação diária de CPP-ACP (10% em pasta) quando associada a escovação regular com dentifrício fluoretado não demonstrou efeito remineralizador adicional significativo na dentição decídua de crianças pré-escolares. Beerens et al.⁶ (2010), também concluíram que não houve vantagem clínica com uso do CPP-ACP no período de 3 meses e Vanichvatana, Auychai³⁶ (2013) observaram nenhum benefício adicional quando da utilização de CPP-ACP conjuntamente a escovação diária com pasta dental fluoretada.

Li et al.¹⁷ (2014), observaram que CPP-ACP tem um efeito remineralizador sobre as lesões de cárie iniciais semelhante ao obtido pelo uso de flúor. Resultados semelhantes foram encontrados nesse estudo aos 8 dias de acompanhamento, onde os

grupos 2 e 3 mostraram melhora na remineralização das lesões de mancha branca, sem diferença estatística significativa entre os grupos. Porém, nos acompanhamentos posteriores, o grupo 2 apresentou melhora na remineralização das manchas brancas superior ao grupo 3, com diferença significativa entre estes.

O grupo 4 apresentou diminuição significativa e progressiva do grau de desmineralização. Em revisão de literatura, Reynolds²⁵ (2009) concluiu haver evidências que apoiem o uso clínico de CPP-ACP, desde que seja utilizado como complemento as aplicações de flúor. Da mesma maneira, Ogata et al.²⁰ (2010), Srinivasan et al.³² (2010), Jayarajan et al.¹⁵ (2011), Robertson et al.²⁷ (2011) e Oliveira et al.²¹ (2014) concluíram que CPP-ACP tem a capacidade de manter a superfície do esmalte livre de lesões, por meio do aumento da taxa de remineralização dado pela liberação de íons cálcio e fosfato biodisponíveis no ambiente bucal e que o uso combinado de pasta CPP-ACP e fluoreto aumenta essa capacidade. Shetty et al.³⁰ (2014), também observaram melhor efeito na remineralização do esmalte por meio do aumento da microdureza, após a utilização de CPP-ACP associado ao flúor.

O CPP-ACP tem a capacidade de manter íntegra a superfície do esmalte fazendo com o que o processo de desmineralização seja diminuído e, quando utilizado conjuntamente com o íon flúor, essa capacidade é aumentada²⁰.

No início do estudo, os grupos não apresentavam diferença estatisticamente significativa entre si, fato que se manteve durante o acompanhamento de 8 dias, quando apenas uma aplicação dos produtos havia sido realizada.

Aos 90 dias, os grupos 1 e 2 apresentaram aumento no grau de desmineralização quando comparado ao grupo 4 e o grupo 3 mostrou aumento no grau de desmineralização ainda maior comparado aos demais grupos. Da mesma maneira, estudos realizados por Beerens et al.⁶ (2010), Vanichvatana, Auychai³⁶ (2013) e Li et al.¹⁷ (2014), não encontraram vantagem clínica na utilização de CPP-ACP sem que este estivesse associado ao uso de flúor.

7 CONCLUSÃO

- O CPP-ACP pode ser indicado para remineralização de manchas brancas.
- A utilização de produtos que contenham CPP-ACP e Flúor podem aumentar ainda mais essa remineralização.

REFERÊNCIAS*

- 1- Alencar CRB, Magalhães AC, Machado MAAM, Oliveira TM, Honório HM, Rios D. In situ effect of a comercial CPP-ACP chewing gum on the human enamel initial erosion. *J Dent.* 2014; 42(11): 1502-7.
- 2- Al-Mullahi AM, Toumba KJ. Effect of slow-release fluoride devices and casein phosphopeptide/amorphous calcium phosphate nanocomplexes on enamel remineralization in vitro. *Caries Res.* 2010; 44(4): 364-71.
- 3- Andersson A, Sköld-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.
- 4- Altenburger MJ, Gmeiner B, Hellwig E, Wrbas KT, Schirrmeyer JF. The evaluation of fluorescence changes after application of casein phosphopeptides (CPP) and amorphous calcium phosphate (ACP) on early carious lesions. *Am J Dent.* 2010; 23(4): 188-92.
- 5- Autio-Gold JT, Courts F. Assessing the effect of fluoride varnish on early enamel carious lesions in the primary dentition. *J Am Dent Assoc.* 2001; 132(9): 1247-53.
- 6- Beerens MW, van der Veen MH, van Beek H, ten Cate JM. Effects of casein phosphopeptide amorphous calcium fluoride phosphate paste on white spot lesions and dental plaque after orthodontic treatment: a 3-month follow-up. *Eur J Oral Sci.* 2010; 118(6): 610-7.
- 7- Calvo AF, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, da Silva WJ, Cury JA. Effect of acidulated phosphate fluoride gel application time on enamel demineralization of deciduous and permanent teeth. *Caries Res.* 2012; 46(1): 31-7.
- 8- Cochrane NJ, Reynolds EC. Calcium phosphopeptides -- mechanisms of action and evidence for clinical efficacy. *Adv Dent Res.* 2012; 24(2): 41-7.

* De acordo com o manual da FOAR/UNESP, adaptadas das normas Vancouver. Disponível no site: <http://www.foar.unesp.br/#!/biblioteca/manual>

- 9- Featherstone JBD. The continuum of dental caries – evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res.* 2004; 83 (Spec No C): C39 – 42.
- 10- Ferreira MAF, Mendes NS. Factors associated with active white enamel lesions. *Int Paediatr Dent.* 2005; 15(5): 327-34.
- 11- Goorhuis J, Purdell-Lewis DJ. 0,25% and 0,4% amine fluoride gel for weekly topical application. An in vivo study on human dental enamel. *Caries Res.* 1986; 20(5): 458-64.
- 12- Huang GJ, Roloff-Chiang B, Mills BE, Shalchi S, Spiekerman C, Korpak AM, et al. Effectiveness of MI Paste Plus and PreviDent fluoride varnish for treatment of white spot lesions: a randomized controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2013; 143(1): 31-41.
- 13- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE [homepage na internet]. São Paulo: Dados gerais do município. [acesso em 2013 set 4]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>
- 14- Jardim JJ, Pagot MA, Maltz M. Artificial enamel dental caries treated with diferente topical fluoride regimes: an in situ study. *J Dent.* 2008; 36(6): 396-401.
- 15- Jayarajan J, Janardhanam P, Jayakumar P; Deepika. 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.
- 16- Lagerweij MD, ten Cate JM. Remineralisation of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: an in situ study. *Caries Res.* 2002; 36(4): 270-4.
- 17- Li J, Xie X, Wang Y, Yin W, Antoun JS, Farella M, et al. Long-term remineralizing effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate(CPP-ACP) on early caries lesions in vivo: a systematic review. *J Dent.* 2014; 42(7): 769-77.
- 18- Mellberg JR. Relationship of original mineral loss in caries-like lesions to mineral changes in situ. Short communication. *Caries Res.* 1991; 25(6): 459-61.

- 19- Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V. Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesion. *Caries Res.* 1999; 33(4): 252-60.
- 20- Ogata K, Warita S, Shimazu K, Kawakami T, Aoyagi K, Karibe H. Combined effect of paste containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and fluoride on enamel lesions: an in vitro pH-cycling study. *Pediatr Dent.* 2010; 32(5): 433-8.
- 21- Oliveira GMS, Ritter AV, Heymann HO, Swift Jr E, Donovan T, Brock G, et al. Remineralization effect of CPP-ACP and fluoride for White spot lesions in vitro. *J Dent.* 2014; 42(12): 1592-602.
- 22- Pithon MM, Santos MJ, Andrade CSS, Leão Filho JCB, Braz AKS, Araújo RE, et al. Effectiveness of varnish with CPP-ACP in prevention of caries lesions around orthodontic brackets: an OCT evaluation. *Eur J Orthod.* 2015; 37(2): 177-82.
- 23- Pukallus ML, Plonka KA, Holcombe TF, Barnett AG, Walsh LJ, Seow WK. A randomized controlled trial of a 10 percent CPP-ACP cream to reduce mutans streptococci colonization. *Pediatr Dent.* 2013; 35(7): 500-5.
- 24- Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J.* 2008; 53(3): 268-73.
- 25- Reynolds EC. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res.* 2009; 21(1): 25-9.
- 26- Ripa LW. Nursing caries: a comprehensive review. *Pediatr Dent.* 1988; 10(4): 268-82.
- 27- Robertson MA, Kau CH, English JD, Lee RP, Powers J, Nguyen JT. MI Paste Plus to prevent demineralization in orthodontic patients: a prospective randomized controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011; 140(5): 660-8
- 28- SABESP Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo [homepage na internet]. São Paulo: Relatório anual de qualidade da água [acesso em 2013 set 4]. Disponível em: <http://www.sabesp.com.br>

- 29- Shen P, Manton DJ, Cochrane NJ, Walker GD, Yuan Y, Reynolds C, et al. Effect of added calcium phosphate on enamel remineralization by fluoride in a randomized controlled in situ trial. *J Dent*. 2011; 39(7): 518-25.
- 30- Shetty S, Hedge M, Boppana T. Enamel remineralization assessment after treatment with three different remineralizing agents using surface microhardness: an in vitro study. *J Conserv Dent*. 2014; 17(1):46-52.
- 31- Sitthisettapong T, Phantumvanit P, Huebner C, Derouen T. Effect of CPP-ACP paste on dental caries in primary teeth: a randomized trial. *J Dent Res*. 2012; 91(9): 847-52.
- 32- Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan SC. Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900ppm fluoride on eroded human enamel: an in situ study. *Arch Oral Biol*. 2010; 55(7): 541-4.
- 33- Tehrani MHA, Ghafournia M, Samimi P, Savabi O, Parisay I, Askari N, et al. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and acidulated phosphate fluoride gel on erosive enamel wear. *Dent Res J*. 2011; 8(Suppl1): S64-S70.
- 34- Tenuta LMA, Lima JEO, Cardoso CL, Tabchoury CPM, Cury JA. Effect of plaque accumulation and salivary factors on enamel demineralization and plaque composition in situ. *Pesqui Odontol Bras*. 2003; 17(4): 326-31.
- 35- Uysal T, Amasyali M, Ozcan S, Koyuturk AE, Akyol M, Sagdic D. In vivo effects of amorphous calcium phosphate-containing orthodontic composite on enamel demineralization around orthodontic brackets. *Aust Dent J*. 2010; 55(3): 285-91.
- 36- Vanichvatana S, Auychai P. Efficacy of two calcium phosphate pastes on the remineralization of artificial caries: a randomized controlled double-blind in situ study. *Int J Oral Sci*. 2013; 5(4):224-8.

- 37- Weinstein P, Domoto P, Wohlers K, Koday M. Mexican-American parents with children at risk for baby bottle tooth decay: pilot study at a migrant farmworkers clinic. *J Dent Child*. 1992; 59(5): 376-83.
- 38- Wang JX, Yan Y, Wang XJ. Clinical evaluation of remineralization potential of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate nanocomplexes for enamel decalcification in orthodontics. *Chin Med J*. 2012; 125(22): 4018-21.
- 39- Wiegand A, Attin T. Randomised in situ trial on the effect of milk and CPP-ACP on dental erosion. *J Dent*. 2014; 42(9): 1210-5.
- 40- Yazicioglu O, Ulukapi H. The investigation of non-invasive techniques for treating early approximal carious lesions: an in vivo study. *Int Dent J*. 2014; 64(1):1-11.
- 41- Yengopal V, Mickenautsch S. Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. *Acta Odontol Scand*. 2009; 67(6):321-32.
- 42- Yuan H, Li J, Chen L, Cannon RD, Mei L. Esthetic comparison of white-spot lesion treatment modalities using spectrometry and fluorescence. *Angle Orthod*. 2014; 84(2): 343-9.
- 43- Zhang Q, Zou J, Yang R, Zhou X. Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate crème on artificial early enamel lesions of primary teeth. *Int J Paediatr Dent*. 2011; 21 (5): 374-81.
- 44- Zhou C, Zhang D, Bai Y, Li S. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralization of primary teeth early enamel lesions. *J Dent*. 2014; 42(1): 21-9.

ANEXOS

Anexo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Para menores de 18 anos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu: _____ data _____ de
nascimento: _____ RG: _____ profissão: _____
endereço: _____

_____ cidade: _____ sou _____ responsável _____ legal
de _____, data de nascimento _____ e

concordo na participação do mesmo na pesquisa intitulada “Remineralização de manchas brancas com a utilização de Caseína fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP): estudo clínico randomizado” sob responsabilidade da Prof^a. Dr^a. Angela Cristina Cilense Zuanon. Para isso autorizo a captação de imagens com aparelhos de fluorescência, que são parecidos à câmera fotográfica, e aplicação de um protocolo de tratamento que são frequentemente utilizados nos consultórios odontológicos para tratamento de mancha branca que eu mesma posso observá-las em meus dentes.

Estou ciente de que tenho a liberdade de me recusar a participar da pesquisa ou de retirar meu consentimento em qualquer fase desta, sem penalização e que não terei nenhum gasto durante a realização da mesma. Autorizo que os dados sejam utilizados para pesquisa e sejam publicados em revistas científicas especializadas e/ou apresentados em congressos científicos, já que me foi garantido pelo pesquisador que minha identidade e a do menor citado acima serão mantidas em sigilo.

Declaro ainda, que a captação de imagens e a aplicação do protocolo de tratamento não trará nenhum risco a sua saúde, mas que mesmo assim ele terá assistência integral garantida se sentir algum desconforto durante o exame ou durante o tratamento. Declaro que todas as minhas dúvidas sobre o assunto da pesquisa foram esclarecidas e que posso entrar em contato com o pesquisador sempre que desejar.

Ciente, _____, ____ de _____ de 20 ____.

Assinatura do menor

Assinatura do responsável

Prof^a. Dr^a. Angela Cristina Cilense Zuanon
Pesquisadora responsável
Fone:(16)3301-6335

Anexo 2

FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

Protocolo

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Faculdade de Odontologia de Araraquara

"Remineralização de manchas brancas com a utilização de Caseína fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) – estudo clínico randomizado"

Paciente: _____ Idade: _____ Telefone: _____

Horário: _____ Escola: _____

Responsável: _____

Escovação (x dia): _____ Pasta dental: _____

Dente	Inicial Código NYVAD	Inicial DDpen dd/mm/aaaa	8 dias DDpen dd/mm/aaaa	1 mês DDpen dd/mm/aaaa	3 Meses DDpen dd/mm/aaaa	Final Código NYVAD

Anexo 3

CÓDIGO NYVAD

CÓDIGO	CATEGORIA	CRITÉRIO
0	Sadio	Textura e translucidez normal do esmalte (leve mancha permitida em fissura sadia)
1	Cárie ativa (superfície intacta)	Superfície de esmalte é esbranquiçada/amarelada opaca com perda de brilho sem perda detectável de substância
2	Cárie ativa (superfície descontínua)	Microcavidade em esmalte apenas, sem esmalte minado ou assoalho amolecido detectado com o explorador
3	Cárie ativa (cavidade)	Cavidade em esmalte/dentina facilmente visível a olho nu, superfície da cavidade sentida frágil em sondagem leve. Pode haver ou não comprometimento pulpar
4	Cárie inativa (superfície intacta)	Esmalte é amarronzado ou preto, pode estar brilhante e é sentido duro ou liso quando a ponta da sonda é movida pela superfície. Sem perda clínica de substância, fissura intacta, lesão estendendo-se pelas paredes
5	Cárie inativa (superfície descontínua)	Microcavidade em esmalte apenas, sem esmalte minado ou assoalho amolecido detectado com o explorador
6	Cárie inativa (cavidade)	Cavidade em esmalte/dentina facilmente visível a olho nu. Superfície da cavidade pode estar brilhante e dura à sondagem com leve pressão

Autorizo a reprodução deste trabalho.

(Direitos de publicação reservados ao autor)

Araraquara, 18 de março de 2015.

ANA CAROLINA BOSCO MENDES