



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

MARIANE CINTRA MAILART

**EFICÁCIA E SEGURANÇA DO ENXAGUATÓRIO CLAREADOR
SOBRE O ESMALTE DENTAL: estudo clínico controlado
randomizado e estudo in vitro**

2022

MARIANE CINTRA MAILART

**EFICÁCIA E SEGURANÇA DO ENXAGUATÓRIO CLAREADOR SOBRE O
ESMALTE DENTAL: estudo clínico controlado randomizado e estudo in vitro**

Tese apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Dentística. Linha de Pesquisa: Diagnóstico, prevenção e tratamento de alterações dos tecidos dentais.

Orientadora: Profa. Assoc. Alessandra Bühler Borges

São José dos Campos

2022

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2022]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Mailart, Mariane Cintra

Eficácia e segurança do enxaguatório clareador sobre o esmalte dental: estudo clínico controlado randomizado e estudo in vitro / Mariane Cintra Mailart. - São José dos Campos : [s.n.], 2022.
120 f. : il.

Tese (Doutorado em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2022.
Orientador: Alessandra Bühler Borges.

1. Agentes clareadores. 2. Clareamento dental. 3. Produtos de venda livre ao consumidor. 4. Cor. 5. Satisfação do paciente . I. Borges, Alessandra Bühler, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Assoc. Alessandra Bühler Borges (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciencia e Tecnologia

Campus de São Jose dos Campos

Profa. Assoc. Taciana Marco Ferraz Caneppele

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciencia e Tecnologia

Campus de São Jose dos Campos

Prof. Assoc. Carlos Rocha Gomes Torres

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciencia e Tecnologia

Campus de São Jose dos Campos

Profa. Dra. Roberta Tarkany Basting Höfling

Centro de Pesquisa Odontologica São Leopoldo Mandic

Campus de Campinas

Prof. Dr. Thiago Saads Carvalho

Universidade de Berna

Suíça

São Jose dos Campos, 28 de julho de 2022.

DEDICATÓRIA

Dedico esta pesquisa à ciência brasileira, e aos professores e cientistas que exercem com amor, seriedade, ética e profissionalismo suas profissões e contribuem para o desenvolvimento do nosso país. Que nunca nos falte entusiasmo para continuar seguindo o que acreditamos.

À minha família pelo amor incondicional e apoio em uma etapa tão importante da minha vida profissional. A compreensão e amparo de vocês me deram forças para eu continuar acreditando que estou no caminho certo.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** que sempre está ao meu lado e me mostra que tudo acontece no momento oportuno. Nada acontece por acaso, tudo é providência.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Unesp, na pessoa da diretora do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Profa. Assoc. **Rebeca Di Nicoló** e do vice-diretor Prof. Assoc. **Claudio Antonio Talge Carvalho**.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal, na pessoa de coordenador Prof. Assoc. **Alexandre Luiz Souto Borges**.

A minha orientadora, Profa. Assoc. **Alessandra Bühler Borges**, por ter sido uma das pessoas mais importantes na minha trajetória. Como eu me desenvolvi, aprendi e aprendo com a senhora. As palavras aqui não serão suficientes para expressar todo meu sentimento de gratidão, admiração e carinho. São 8 anos de trabalho juntas e convívio diário com muitos projetos concluídos e outros que ainda estão por vir. Eu agradeço imensamente a confiança em mim e no meu trabalho. Obrigada por ter sempre me apresentado às oportunidades; por me ajudar nos desafios que encontrei; por estar sempre pronta a me ouvir e a me a aconselhar nos momentos que mais precisei. Eu nunca me esquecerei e com certeza levarei isso para o resto da vida. Todo o meu desenvolvimento só foi possível pela orientação maravilhosa que a senhora dispensa a seus alunos. Somos muito privilegiados por termos alguém como a senhora em nossa formação.

Ao Prof. Assoc. **Carlos Rocha Gomes Torres** pela parceria nos trabalhos, pelos conselhos e conversas que sempre me ajudaram e me esclareceram muito. Eu agradeço muito também por todas as oportunidades que o senhor ofereceu a mim. Sempre me senti muito alegre e privilegiada pela confiança que o senhor sempre teve em mim e no meu trabalho. Com certeza, este momento tão importante teria que ter a presença do senhor. Muito obrigada por ter aceitado a fazer parte da banca examinadora da minha tese.

A Profa. Assoc. **Taciana Marco Ferraz Caneppele** pelo convívio diário, pelos ensinamentos e conversas que me marcaram para sempre. Nunca esquecerei o carinho que sempre teve por mim e pelo quarteto, e nem do primeiro artigo publicado. São lembranças que guardarei sempre com muita alegria e carinho.

Muito obrigada por ter aceitado a fazer parte da banca examinadora da minha tese.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal. Cada docente do programa participou da minha formação em algum momento desde a graduação. Hoje, finalizo um dos últimos estágios da minha formação profissional e agradeço a todos vocês que contribuíram para que eu esteja onde estou. Em especial, agradeço muitíssimo aos professores da disciplina de Dentística que tanto admiro e que tanto me ensinaram. Além dos ensinamentos técnicos, levarei comigo o sentimento de amizade e as lembranças do convívio harmonioso. Muito obrigada, Prof. Assoc. **Cesar Rogério Pucci**, Prof. Tit. **Clovis Pagani**, Prof. Assoc. **Eduardo Bresciani**, Profa. Dra. **Karen Cristina Kazue Yui**, Profa. Dra. **Maria Filomena Rocha Lima Huhtala**, Prof. Tit. **Sergio Eduardo de Paiva Gonçalves**.

Ao Prof. Dr. **Thiago Saads Carvalho** com quem eu tive o privilégio de trabalhar e conviver durante 9 meses. Nunca esquecerei de toda sua ajuda para que eu pudesse conseguir fazer o estágio; de sua acolhida; da sua atenção e paciência durante todo o período do “Doutorado Sanduíche”. Muito obrigada por ter me aceitado como aluna; por confiar no meu trabalho; por me ensinar tanto; por mostrar-se disponível para qualquer coisa que eu precisasse; e por ter me permitido experienciar esse presente tão maravilhoso que foi o “Sanduíche”. Agradeço imensamente também pelas oportunidades que o senhor confiou a mim. Muito obrigada por ter aceitado a fazer parte da banca examinadora da minha tese.

A Profa. Dra. **Roberta Tarkany Basting Höfling** por ter aceitado prontamente a fazer parte da banca examinadora da minha tese. Para mim, foi motivo de grande alegria poder novamente contar com a presença da senhora nesse momento tão importante.

A minha família maravilhosa, meus pais (**Maria Alice Vianna Cintra Mailart** e **Carlos Vitor dos Santos Mailart**) e minha irmã (**Amanda Cintra Mailart**) que são meus melhores amigos e que sempre apoiam minhas escolhas. É um sentimento de profunda gratidão poder contar com o suporte de vocês na minha caminhada. Com vocês ao meu lado, tenho certeza de que tudo dará certo. O amor e apoio incondicionais são essenciais para me sentir protegida e continuar seguindo os meus sonhos. As palavras não são suficientes para demonstrar todo meu sentimento. Em especial, agradeço a minha irmã por ser uma pessoa que está sempre pronta a me ouvir e que tanto me aconselhou. Suas palavras sempre foram meu alicerce, esperança e motivo de fé. Agradeço imensamente ao meu namorado **Fabricio Cherem** pelo apoio, companheirismo

e alegria de todos os dias. Obrigada por me motivar e me incentivar e, principalmente, por sua compreensão. Sua chegada em minha vida trouxe mais leveza, equilíbrio e agora me sinto completa. Amo vocês.

Aos meus amigos da pós-graduação que fazem toda diferença no ambiente de trabalho e tornam o dia-dia mais leve. Em especial agradeço a **Ana Luiza Barbosa Jurema**, **Mauricio Yugo de Souza** e **Rafael Santos Rocha** que foram uma segunda família para mim durante a pós-graduação e hoje temos a certeza de que essa amizade foi muito além da UNESP. Passamos por tantos momentos juntos e sempre recebendo apoio um do outro. Assim como nós, nossa relação de amizade foi amadurecendo enquanto também estávamos crescendo profissionalmente. Que privilégio poder viver tudo isso com vocês. Muito obrigada por todo companheirismo, pelo apoio nos momentos desafiadores, por permitirem que tenhamos memórias maravilhosas pelas viagens que fizemos, pelos cafés e conversas que tivemos, pelos trabalhos e discussões que nos fizeram tanto aprender. Esse quarteto será para sempre muito especial.

À aluna de Iniciação Científica, **Karine Carvalho dos Santos**, pela amizade, parceria na execução dos trabalhos, comprometimento e dedicação em todos os projetos que foram propostos. Além do convívio diário ter sido sempre muito leve, foi um prazer enorme trabalhar com você e também contribuir um pouquinho para sua formação profissional. Não tenho dúvidas do seu sucesso.

A minha amiga **Lucélia Lemes Gonçalves** que deu me deu a oportunidade de me inserir no mercado de trabalho. Agradeço muitíssimo por ter me considerado para contratação. Foi uma imensa alegria.

À coordenadora da Anhanguera Educacional, **Miriane Carneiro Machado Salgado**, que deu continuação ao processo de contratação e me deu todo suporte e orientação que eu precisava. Foi um prazer imenso trabalhar com você e ter um ambiente de trabalho com pessoas solícitas, amigas e que estão sempre prontas a ajudar. Ainda, agradeço a parceria da **Ana Paula Valente Pinho Mafetano** não só na disciplina que ministrávamos juntas, mas pela amizade, conversas e conselhos.

Às pessoas maravilhosas que conheci durante o “Doutorado Sanduíche”. Certamente esse estágio foi tão marcante em minha vida porque pude conhecer pessoas excepcionais que fizeram toda diferença para que eu tivesse um período agradável e tão especial. Agradeço as minhas amigas **Ludovica Parisi** e **Xilei Zhu** pela acolhida quando cheguei em Berna, pelo convívio diário, pelas trocas de experiências de vida, pelas viagens de finais de semana e por

todos os momentos que passamos juntas, principalmente às idas para tomar sorvete e o suporte durante um período desafiador na execução da minha pesquisa.

Agradeço a minha amiga **Leticia Oba Sakae** que foi também essencial não somente durante o estágio, mas quando estávamos na fase de aplicação. Obrigada por sempre ter tirado minhas dúvidas e por ter se tornado uma grande amiga! Quando eu fui à sua defesa de mestrado, não imaginava que um dia pudéssemos viver esse sonho juntas e que nos tornaríamos tão amigas. Obrigada por ser uma amiga maravilhosa.

Agradeço a minha amiga **Samira Niemeyer** pela amizade, apoio e conversas. Quando nos conhecemos a sensação era de que já nos conhecíamos há muito tempo! Obrigada por toda ajuda e conselhos que você me deu.

Agradeço à técnica do Laboratório de Biologia Oral Molecular **Silvia Rihs** e ao Chefe do Laboratório Dr. **Martin Degen** por sempre terem sido tão atenciosos e gentis comigo. Nunca me esquecerei dos presentes de “Ovomaltine”.

Agradeço aos técnicos do Laboratório de Cariologia e Erosão Dental, **Michael Stiebritz**, **Isabel Hug**, **Samuel Furrer**, **Barbara Beyeler**, com quem trabalhei diretamente e que foram impecáveis em me ensinar tudo o que eu precisava para conduzir os trabalhos. Além do apoio profissional, vocês são grandes amigos.

Agradeço aos outros pesquisadores com quem tive o privilégio de trabalhar, Dr. **Tommy Baumann** e Dr. **Richard Wierichs**. Obrigada por estarem sempre disponíveis a tirar dúvidas e também a trocar ideias. Sempre foi muito enriquecedor e prazeroso conversar com vocês.

Às técnicas de laboratório do Departamento de Odontologia Restauradora, **Josiana Carneiro** e **Fernanda Brito**, por toda ajuda, conversas e amizade durante todo esse tempo, e à Assessora Administrativa **Liliane Marques Franchitto** pelo auxílio todas as vezes que precisei. Vocês sempre foram muito atenciosas e carinhosas comigo. Toda vez que alguma novidade surgia na minha vida, eram nítidas a alegria e torcida de vocês para que desse tudo certo para mim.

À equipe da Biblioteca pela ajuda na elaboração deste trabalho, contribuindo com o acesso ao material bibliográfico e na orientação das normas. Em especial, agradeço ao **Rafael Lopes da Cunha** que disponibilizou seu tempo para me esclarecer sobre normas de formatação.

Ao Sr. **Carlos Alberto Guedes**, supervisor do Escritório de Pesquisa do Instituto de Ciência e Tecnologia – UNESP, que é muito atencioso, ético e profissional e que nos auxilia com todos os trâmites e esclarecimentos sobre o processo FAPESP. O senhor é essencial para que consigamos submeter os projetos,

cumprir os prazos, realizar as prestações de conta. Muito obrigada por toda ajuda.

Ao Sr. **Amauri Mendes da Silva**, por toda ajuda técnica na transmissão tanto da minha apresentação e arguição no Exame geral de Qualificação quanto na Defesa da Tese. Muito obrigada por ter prontamente me atendido e me ajudado todas as vezes que recorri ao senhor.

À equipe da Secretaria da Pós-graduação que são exemplares, atenciosos e sempre estão dispostos a nos ajudar. Muito obrigada **Sandra Mara Cordeiro**, **Carolina Lourenço Rei**, e **José Marcos da Silva**.

A todos os funcionários desta Instituição que fazem parte da administração, manutenção, limpeza e portaria por cuidarem do nosso espaço de trabalho e facilitarem nosso dia-dia. Vocês são essenciais para o bom funcionamento da Universidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**), pela concessão da Bolsa de Doutorado, pelo Processo nº 88882.434256/2019-01, no período de 01/02/2018 a 30/11/2019.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP**) pela concessão da bolsa de Doutorado, pelo Processo nº 2018/23892-8, no período de 01/12/2019 a 28/07/2022; e pela bolsa **BEPE** (Processo nº 2020/13036-7) durante o período 01/03/2021 a 30/11/2021, durante meu doutorado sanduíche.

Às empresas **Ultradent**, **Johnson & Jonhson** e **VOCO**, pelo fornecimento dos materiais necessários para a realização deste trabalho.

À **Odontologia**, minha profissão, que me permitiu vivenciar tantos sonhos e alegrias. As escolhas vão fazendo com que sigamos caminhos que muitas vezes não sabemos onde iremos parar. Quando optei por entrar no mestrado e seguir na vida acadêmica, não sabia o mundo de possibilidades que se apresentariam à minha frente. Foi revigorante e desafiador. Fui amando cada vez mais a ideia de ser professora e pesquisadora. Nesse meio acadêmico, conheci pessoas maravilhosas, lugares que eu nem imaginava ir e tive experiências que achava que não estariam ao meu alcance. Cada degrau que fui subindo, encontrei uma “mão amiga” que me suportou e auxiliou para que eu pudesse dar o próximo passo, encontrei também palavras de incentivo que me fortaleceram, permitindo que eu desse o próximo passo com mais segurança. E hoje eu tenho a tranquilidade de pensar que “não sei onde vou

parar”, porque a vida é cíclica e dinâmica. Estamos nos renovando o tempo inteiro e por isso, o “parar” não pode ter vez. Precisamos estar abertos às oportunidades, seguir o caminho em frente para descobrir mais belezas e enriquecer nossa vida e nosso espírito. O que vem pela frente é sempre surpreendente.

„Ou entramos de corpo e alma nos nossos sonhos ou então não estamos onde realmente sonhamos em chegar“. Carlos Vitor dos Santos Mailart.

RESUMO

Mailart MC. Eficácia e segurança do enxaguatório clareador sobre o esmalte dental: estudo clínico controlado randomizado e estudo *in vitro* [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2022.

Enxaguatórios clareadores tornaram-se muito populares devido ao seu fácil uso e disponibilidade. Contudo, não há evidência dos efeitos e segurança desses produtos sobre o esmalte sadio e desmineralizado. Esta proposta foi dividida em duas partes. A primeira foi um estudo clínico randomizado que avaliou a eficácia e segurança do enxaguatório clareador. Participantes (n=45) foram alocados aleatoriamente em três grupos de tratamento: LWE (Listerine Whitening Extreme—peróxido de hidrogênio a 2,5%); PL (Enxaguatório placebo); e OPF (Opalescence PF—peróxido de carbamida a 10%). O tratamento foi realizado 1x/dia por 14 dias durante 2h para OPF, e 2x/dia por 90 dias durante 30s para LWE e PL. A cor dos dentes foi avaliada com escalas de cor (Δ UEC) e por espectrofotometria. Foram avaliados sensibilidade dental, condição gengival, potencial de desmineralização do esmalte, e a satisfação do participante. As avaliações foram realizadas em diferentes tempos. Para as escalas de cor, Kruskal-Wallis mostrou diferença significativa entre os tratamentos nos tempos avaliados ($p<0,05$). LWE apresentou maiores valores de Δ UEC comparado ao PL a partir de 60 dias. PL e OPF exibiram valores constantes, sendo significativamente maiores para OPF. Para o espectrofotômetro, RM-ANOVA mostrou diferença significativa para os grupos e interação ($p<0,05$). LWE apresentou maiores valores de alteração de cor do que PL a partir de T14. OPF exibiu os maiores valores de alteração de cor durante todo o período de estudo. Após 2 anos, houve manutenção da cor dos dentes para todos os grupos. Houve baixa intensidade de sensibilidade para LWE e OPF. Nenhum participante apresentou inflamação gengival. LWE e OPF promoveram uma diminuição significativa na concentração de cálcio, mas após 1 semana, os valores foram intermediários. A concentração de fósforo não apresentou alteração nos tempos avaliados. Todos os participantes ficaram satisfeitos com o tratamento com OPF e 67% dos participantes do grupo LWE apresentaram satisfação. A segunda parte consistiu em um estudo *in vitro* que comparou o efeito do enxaguatório clareador na desmineralização do esmalte e em lesões incipientes de cárie durante ciclagem de pH. Espécimes de esmalte/dentina bovino (n=120) com a superfície dividida em três áreas [esmalte sadio controle, esmalte tratado (ET); e lesão incipiente de cárie tratada (LICT)] foram distribuídos aleatoriamente nos grupos experimentais: LWE; PL; OPF e água deionizada (AD). Os tratamentos (2min para LWE, PL e AD; e 2h para OPF) foram realizados durante uma ciclagem de pH de 28 dias (6×60min desmineralização). Intensidade de reflexão superficial (rSRI), perda mineral e concentração de flúor (espécimes adicionais) foram avaliados. Para ET, foi observado maior valor de rSRI em LWE ($89,99\pm6,94$) e maior diminuição de rSRI foi observada para OPF e AD. Não houve perda mineral nos grupos ($p>0,05$). Para LICIT, rSRI diminuiu significativamente após a ciclagem para todos os grupos sem diferença entre eles ($p>0,05$). Maior concentração de flúor foi encontrada em OPF. LWE e OPF exibiram efeitos semelhantes na perda mineral com valores intermediários. Houve eficácia clareadora tanto para LWE quanto para OPF e manutenção da cor após 2 anos. Houve efeito protetor do enxaguatório durante a ciclagem.

Palavras-chave: agentes clareadores; clareamento dental; produtos de venda direta ao consumidor; cor; satisfação do paciente.

ABSTRACT

Mailart MC. Efficacy and safety of whitening mouthrinse on enamel: randomized clinical trial and in vitro study [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2022.

Whitening mouthrinses have become very popular because they are easy to use and are accessible. However, there is no evidence of the effects and safety of this product on sound and demineralized enamel. The proposal comprised in two parts. The first one was a randomized clinical trial that evaluated the efficacy and safety of the whitening mouthrinse. Participants (n=45) were randomly allocated to three treatment groups: LWE (Listerine Whitening Extreme–2.5% hydrogen peroxide); PL (placebo mouthrinse); and OPF (Opalescence PF–10% carbamide peroxide). The treatment was performed 1x/day for 14 days during 2h for OPF, and 2x/day for 90 days during 30s for LWE and PL. Tooth color was measured using shade guides (Δ UEC) and spectrophotometer. Tooth sensitivity, gingival condition, enamel demineralization potential, and participant satisfaction were analyzed. The analyses were performed in different times. For shade guides, Kruskal-Wallis showed a significant difference between treatments in the evaluated times ($p<0.05$). LWE showed higher Δ UEC values compared to PL after 60 days. PL and OPF exhibit constant values, being significantly higher for OPF. For spectrophotometer, RM-ANOVA showed significance for the groups and interaction ($p<0.05$). LWE showed higher color difference values than PL from T14. OPF exhibited the highest values throughout the study. After 2 years, there was maintenance of tooth color for all groups. There was lower intensity of sensitivity for LWE and OPF. No participant exhibited gingival inflammation. LWE and OPF promote a significant decrease in calcium concentration, but after 1 week the values were intermediate. Phosphorus concentration did not alter over time. All participants of OPF group were satisfied with the treatment and 67% of the participants of LWE group showed satisfaction. The second part of the study consisted of an in vitro study that compared the effect of whitening mouthrinse on enamel demineralization and on initial caries lesions. Bovine enamel/dentin specimens (n=120) had their surface divided into three areas [control sound enamel, enamel treated (ET); and initial caries lesion treated (ICLT)] and were randomly assigned to the experimental groups: LWE; PL; OPF; and deionized water (DW). The treatments (2min for LWE, PL and DW; and 2h for OPF) were performed during a 28-day pH cycle (6x60min demineralization). Surface reflection intensity (rSRI), mineral loss, and fluoride concentration (additional specimens) were performed. For ET, a higher value of rSRI was observed in LWE (89.99 ± 6.94) and a greater decrease in rSRI was observed for OPF and DW. There was no mineral loss in the groups ($p>0.05$). For ICLT, rSRI was significantly significant after cycling for all groups with no difference between them ($p>0.05$). Higher fluoride concentration was found in OPF. LWE and OPF exhibited similar effects on the mineral loss with intermediate values. There was whitening efficacy for both LWE and OPF and color maintenance after 2 years. There was a protective effect of the mouthrinse during cycling.

Keywords: whitening agents; tooth whitening; over-the-counter products; color; patient satisfaction.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1 Descoloração dental	23
2.2 Mecanismo de ação dos agentes clareadores	25
2.3 Técnicas clareadoras de dentes vitais	26
2.4 Enxaguatórios clareadores	28
2.5 Alteração da cor dos dentes e métodos para avaliação	30
2.6 Potenciais efeitos adversos promovidos por géis clareadores	31
2.7 Potenciais efeitos adversos promovidos por enxaguatórios clareadores ..	36
2.8 Potenciais impactos de agentes clareadores em lesões incipientes de cárie	37
3 PROPOSIÇÃO	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Aspectos éticos	41
4.2 Parte 1 – Estudo clínico randomizado controlado: Eficácia e segurança do tratamento clareador com um enxaguatório a base de peróxido de hidrogênio a 2,5%	41
4.2.1 Desenho do estudo	41
4.2.2 Cálculo amostral.....	43
4.2.3 População de estudo	43
4.2.4 Sequência de alocação aleatória e implementação	45
4.2.5 Cegamento	45
4.2.6 Calibração dos examinadores para a mensuração de cor subjetiva	45
4.2.7 Controle da acurácia do método objetivo para mensuração da cor dos dentes	46
4.2.8 Procedimentos laboratoriais	47
4.2.9 Procedimentos clínicos – Intervenção	47
4.2.10 Avaliação da cor dos dentes	49

4.2.11 Avaliação da sensibilidade dental	51
4.2.12 Avaliação da condição gengival	52
4.2.13 Avaliação do potencial de desmineralização do esmalte – Microbiópsia do esmalte e quantificação da concentração de cálcio e fosforo	53
4.2.14 Avaliação da satisfação do paciente	56
4.2.15 Delineamento estatístico	57
4.3 Parte 2 – Estudo <i>in vitro</i> : Efeito do enxaguatório clareador no potencial de desmineralização do esmalte e em lesões incipientes de carie durante o desafio cariogênicos	59
4.3.1 Desenho do estudo	59
4.3.2 Preparo dos espécimes	59
4.3.3 Randomização dos espécimes	61
4.3.4 Formação das lesões incipientes de cárie	61
4.3.5 Ciclagem de pH e tratamentos	62
4.3.6 Determinação da concentração de flúor e pH dos produtos testados	64
4.3.7 Análises de superfície	64
4.3.7.1 Análise da intensidade de reflexão de superfície	64
4.3.7.2 Análise do flúor adsorvido no esmalte	66
4.3.8 Análises de subsuperfície	67
4.3.8.1 Análise de perda mineral	67
4.3.8.2 Análise do flúor incorporado ao esmalte	68
4.3.9 Delineamento estatístico	68
5 RESULTADOS	70
5.1 Resultados da Parte 1	70
5.1.1 Dados demográficos	70
5.1.2 Distribuição dos voluntários nos grupos de tratamento	71
5.1.3 Alteração de cor dos dentes verificada pelas escalas visuais e pelo espectrofotômetro	72
5.1.4 Sensibilidade dental	75
5.1.5 Condição gengival	76

5.1.6 Conteúdo mineral do esmalte	76
5.1.7 Satisfação do paciente.....	77
5.2 Resultados da Parte 2	80
5.2.1 Microdureza superficial	80
5.2.2 Análises da área de esmalte tratado (ET)	81
5.2.2.1 Intensidade de reflexão de superfície	81
5.2.2.2 Perda mineral	82
5.2.3 Análises da área de lesão incipiente de carie tratada (LICT).....	84
5.2.3.1 Intensidade de reflexão de superfície	84
5.2.3.2 Perda mineral	85
5.2.4 Análises adicionais	87
5.2.4.1 Flúor adsorvido em esmalte.....	87
5.2.4.2 Flúor incorporado ao esmalte	88
6 DISCUSSÃO	89
6.1 Estudo clínico randomizado.....	89
6.2 Estudo <i>in vitro</i>	94
7 CONCLUSÃO	99
REFERÊNCIAS	100
APÊNDICES.....	114
ANEXO	120

1 INTRODUÇÃO

A determinação da cor de um objeto envolve um complexo fenômeno psicofísico que pode ser descrito como uma sensação visual. Em se tratando da cor dos dentes, esta sensação é resultante do comportamento da interação entre a luz incidente e as estruturas dentais. O tipo de fonte de luz, características do esmalte e dentina, experiência do observador e a própria visão do observador são fatores preponderantes que determinam a cor dos dentes (Yuan et al., 2007; Joiner, 2004; Joiner et al., 2008). Dependendo de como a luz interage com a superfície dos dentes, ela é espalhada e parcialmente absorvida ou refletida devido a composição e morfologia da coroa dental (ten Bosch, Coops, 1995; Joiner, 2004; Joiner et al., 2008). Como a dentina compreende uma parte substancial da coroa, este tecido é primariamente responsável pela determinação da cor (Battersby, Battersby, 2015), enquanto o esmalte é responsável tanto pelo espalhamento da luz como pela sua transmissão, modulando então a cor determinada pela dentina (He et al., 2020).

Além da composição e morfologia microestrutural do esmalte e dentina, a espessura e a distribuição desses tecidos também desempenham um papel fundamental na determinação da cor dos dentes, resultando em regiões de contrastes de cor e caracterizando o dente como uma estrutura policromática. Com o envelhecimento, hábitos, alimentação e processos fisiológicos, a cor dos dentes vai se alterando (Carvalho, Lussi, 2017), podendo levar à insatisfação dos indivíduos em relação a aparência estética do sorriso. Um sorriso harmonioso e que esteja dentro da concepção de estética adquirida por experiências individuais tem uma influência direta na autoestima, impacto na inserção das pessoas no mercado de trabalho e afeta a vida social. Por esta razão, procedimentos que contribuem para melhorar a aparência dos dentes são corriqueiramente requisitados pelos pacientes. Dentre os procedimentos, o clareamento dental é frequentemente realizado no dia-dia clínico. Estima-se que 32% dos procedimentos diários que ocorrem no consultório, envolvem o tratamento clareador (American Academy of Cosmetic Dentistry (AACD), 2015).

O clareamento dental é um tratamento minimamente invasivo, seguro e eficaz, que possibilita a alteração de cor dos dentes (Alkahtani et al., 2020; Joiner et al., 2008; Mailart et al., 2021), uma vez que há o aumento da luminosidade e diminuição do

amarelamento. Este tratamento tem sido realizado há anos, utilizando principalmente produtos à base de peróxido de hidrogênio. Com a tendência em se reduzir o tempo de uso diário, otimizar o tempo de tratamento com manutenção da eficácia clareadora, diferentes produtos estão disponíveis no mercado, como por exemplo os produtos clareadores de venda livre ao consumidor.

Embora idealmente as técnicas clareadoras devam ser supervisionadas pelos profissionais, os produtos de venda livre ao consumidor, como dentifrícios e enxaguatórios clareadores contendo peróxido de hidrogênio, tornaram-se bastante populares e acessíveis para os consumidores. Estes produtos apresentam baixo custo e são de fácil aplicação. Contudo, como esses produtos estão facilmente disponíveis diretamente para os indivíduos sem que haja a necessidade de prescrição ou supervisão direta do cirurgião-dentista, é muito importante avaliar sua eficácia, bem como garantir sua segurança de uso. Estudos clínicos randomizados avaliando tanto a eficácia como o risco de efeitos adversos como sensibilidade dental e inflamação gengival promovidos por enxaguatórios clareadores são escassos na literatura.

Quando uma breve pesquisa é realizada na plataforma *PubMed* com os termos “Tooth bleaching” ou “Tooth Whitening”, mais de 3000 estudos podem ser encontrados sobre esses temas. Contudo, quando adicionamos as palavras-chave “Mouthrinse*” ou “Mouthwash*”, ao redor de 350 estudos estão disponíveis e menos de 5% destes são estudos clínicos ou avaliaram a eficácia clareadora dos enxaguatórios em estudos laboratoriais. Estes estudos têm demonstrado a eficácia clareadora de enxaguatórios em espécimes de esmalte/dentina e sua capacidade de manter o resultado clareador obtido com o tratamento com peróxido de carbamida a 10% (Karadas, 2015; Oliveira et al., 2017; Torres et al., 2013).

Com relação aos possíveis efeitos adversos no esmalte dental ocasionados pelos enxaguatórios clareadores, poucos estudos também são encontrados. Verificou-se que há alteração estrutural do esmalte ocasionada por desmineralização devido a redução da microdureza do esmalte bem como pelo efeito erosivo (Goldberg et al., 2010; Torres et al., 2018). No entanto, é necessário cautela ao se extrapolar esses resultados clinicamente, pois é extremamente importante considerar a presença da saliva humana durante o uso desses produtos, bem como a suplementação de flúor.

Como os enxaguatórios clareadores estão facilmente disponíveis aos consumidores, muitos indivíduos que fazem uso destes produtos podem apresentar

lesões de cárie não diagnosticadas. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a cárie dental é a doença crônica que mais afeta a saúde bucal. Somente 35% da população tem acesso ao serviço odontológico nos países de baixa renda e mais de 70% da população nos países de média e alta renda tem acesso ao serviço odontológico. Assim, muitas pessoas não têm acesso a uma correta instrução sobre cuidados bucais e podem apresentar lesões incipientes de cárie. O efeito dos agentes clareadores no conteúdo mineral do dente tem sido verificado em estudos laboratoriais em esmalte sadio, contudo, poucas evidências estão relacionadas à atuação dos peróxidos sobre lesões incipientes de cárie.

Os enxaguatórios clareadores são indicados para serem utilizados por longos períodos (ao redor de 90 dias) e, geralmente, contém de 1 a 2,5% de peróxido de hidrogênio. Devido ao seu efeito oxidativo, o peróxido altera tanto a matriz orgânica quanto o conteúdo mineral superficial do esmalte. Embora o efeito oxidativo na matriz orgânica seja bem descrito na literatura, como o peróxido age exatamente na diminuição do conteúdo mineral ainda não está apropriadamente descrito. De acordo com as características eletroquímicas do peróxido e devido ao seu forte potencial oxidante, o peróxido de hidrogênio promove uma lixiviação dos minerais em condições acídicas (Nicol, 2020), e a diminuição no conteúdo mineral é demonstrado por meio da redução das bandas de fosfatos e perda mineral que ocorrem tanto na área mais externa da superfície do esmalte como na subsuperfície (Cavalli et al., 2011; Hegedüs et al., 1999; Salomão et al., 2014).

Assim, a fim de se minimizar o potencial de desmineralização, os produtos clareadores são suplementados com agentes remineralizantes, como os fluoretos. É sugerido que o flúor adsorvido é formado na superfície do esmalte, o que seria responsável por diminuir o potencial de desmineralização (Andrade et al., 2021; Borges et al., 2012; Santos et al., 2016).

Torna-se então importante a investigação do efeito dos enxaguatórios clareadores na alteração da cor dos dentes e a satisfação do paciente, uma vez que muitos fatores podem interferir no resultado clareador, bem como nos potenciais efeitos adversos, como o tempo e frequência de aplicação do produto, concentração do agente clareador, temperatura da boca, fluxo salivar, capacidade de limpeza e conteúdo mineral da saliva, bem como a investigação dos efeitos que estes produtos podem ter sobre um esmalte desmineralizado. Assim, o desenvolvimento de um

estudo clínico criterioso é relevante para gerar evidência do sucesso do tratamento em condições reais, bem como da sua segurança. Adicionalmente, o desenvolvimento de um estudo *in vitro* para investigar o potencial efeito do enxaguatório a base de peróxido de hidrogênio em lesão incipiente de cárie durante desafio cariogênico contribui para guiar a prática clínica bem como reforçar as recomendações de uso.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A elaboração da presente revisão de literatura teve como propósito fornecer subsídios para o desenvolvimento deste estudo com base nas mais relevantes e recentes pesquisas. Os assuntos serão abordados em tópicos principais gerando uma linha mestra que facilitará a compreensão do objetivo principal do presente estudo. Os tópicos então discorrerão sobre a etiologia de descoloração dental, o mecanismo de ação dos agentes clareadores; técnicas clareadoras disponíveis para dentes vitais; potenciais efeitos adversos que podem ocorrer tanto com os géis clareadores como com o enxaguatório; tratamento com enxaguatório clareador; métodos de avaliação da eficácia clareadora; e os potenciais impactos que o agente clareador pode gerar no esmalte desmineralizado.

2.1 Descoloração dental

Dentre os tratamentos que objetivam minimizar a descoloração do substrato dental, o clareamento é o mais conservador quando comparado a procedimentos invasivos que envolvem o preparo dental e confecção de restaurações (Barghi, 1998; Al Shethri et al., 2003; de Paula et al., 2015). No entanto, é de extrema importância entender os fatores causais da descoloração dental, bem como suas características para a correta indicação do tratamento.

A descoloração dental apresenta etiologia multifatorial, estando associada a diferentes fontes como cromógenos provenientes da dieta, tabaco, íons metálicos e medicamentos (Shellis et al., 2005; Watts, Addy, 2001). Didaticamente, a descoloração dental ainda foi classificada em intrínseca; extrínseca ou combinação de ambos (Watts, Addy, 2001; Torres et al., 2014). A descoloração intrínseca dos dentes está relacionada à deposição de pigmentos na matriz do gérmen dental, durante sua formação, decorrente, por exemplo, da exposição a altos níveis de fluoretos e tetraciclina. Com o passar dos anos e resultado fisiológico do envelhecimento, os dentes sofrem alterações que interferem diretamente na coloração

dos tecidos dentais, como deposição de dentina secundária e o constante desgaste do esmalte, bem como necrose pulpar (Carvalho, Lussi, 2017; Watts, Addy, 2001).

A descoloração de origem extrínseca consiste na deposição de cromógenos na superfície externa do esmalte dental e que podem ser removidos por meio de profilaxia (Hattab et al., 1999; Dahl, Pallesen, 2003; Benbachir et al., 2008; da Costa et al., 2010). No entanto, ainda existem questionamentos e dúvidas com relação a deposição dos cromógenos na superfície do dente, e se realmente há incorporação ou internalização dessas moléculas na estrutura dental, principalmente com os cromógenos provenientes da dieta.

Neste processo de manchamento, é importante considerar o papel fundamental da película adquirida na deposição de cromógenos na superfície dental. A película adquirida é um fino filme acelular que se forma na superfície dental quando esta é exposta ao ambiente bucal (Siqueira et al., 2012). Ela é composta por proteínas salivares e não salivares, carboidratos, fosfolipídios e lipídeos. Dependendo do tipo de cromógeno, ele apresenta alta afinidade química com as proteínas salivares presentes na película adquirida, como proteínas rica em prolina e histatinas, por meio de forças eletrostáticas (interação de longo alcance) e interações hidrofóbicas, bem como ligações de hidrogênio (interação de curto alcance) (Flemming et al., 2021; Shellis et al., 2005). Considerando o cromógeno proveniente da dieta e que apresenta alta afinidade com as proteínas presentes na película adquirida, os polifenóis estão presentes em bebidas e alimentos pigmentados e eles são descritos como pigmentos naturais (Drynan et al., 2010; Shoji, 2007; Singla et al., 2019).

Os polifenóis compreendem uma ampla gama de diferentes substâncias de estruturas químicas simples a complexas. Mais de 8.000 estruturas fenólicas foram classificadas de acordo com sua origem em compostos sintéticos e naturais. Eles podem ser ainda classificados de acordo com sua estrutura química em ácidos fenólicos, flavonóides ou não flavonóides (Martinez et al., 2017; Shoji, 2007). Os polifenóis são compostos basicamente por um anel benzênico ligado ao grupo hidroxila (Flemming et al., 2021), favorecendo sua hidrofiliidade, sua forte ligação às proteínas salivares, permitindo então a formação do complexo proteína-polifenol (Flemming et al., 2021). Este complexo pode então causar alteração da cor da película, e conseqüentemente, a percepção da cor do dente. Alternativamente, os compostos fenólicos também podem interagir com o conteúdo mineral da superfície

do esmalte (Shellis et al., 2005), contribuindo para a retenção destes pigmentos nas estruturas dentárias (Flemming et al., 2021; Shellis et al., 2005).

Assim, a alteração de cor é, em última análise, determinada pelo tipo de polifenol e sua estrutura química, pelo pH e pela frequência da ingestão das bebidas/alimentos ricos em polifenóis (Azer et al., 2010; Manno et al., 2018). Considerando o pH, tanto o pH da saliva e como do próprio meio em que o polifenol está são de suma importância para que a aderência do polifenol na superfície dental ocorra, uma vez que o pH interfere na natureza atrativa ou repulsiva da interação entre proteínas salivares e polifenol (Brown et al., 2021). Nesse contexto, uma bebida altamente pigmentada e com baixo pH pode comprometer a integridade da superfície do esmalte devido à desmineralização, levando à erosão e contribuindo então para a penetração de cromógeno no substrato dental (Azer et al., 2010; Manno et al., 2018).

Além da ligação química, a interação dos polifenóis com a superfície do dente na presença da película adquirida contribui para a sua incorporação que pode ser facilitada pela presença de defeitos no esmalte dental (Watts, Addy, 2001), classificados em defeitos de desenvolvimento ou defeitos adquiridos, que facilitam a incorporação dessas moléculas no tecido dental.

Assim, um manchamento primeiramente extrínseco pode contribuir para a alteração de cor intrínseca do substrato dental. Desta forma, em se tratando de descoloração dental intrínseca, uma das possíveis opções de tratamento é o clareamento dental. Este tratamento consiste em um processo químico de interação entre os radicais livres provenientes do agente clareador com as moléculas dos pigmentos orgânicos presente no substrato dentário, bem como em toda a estrutura dos tecidos dentais.

2.2 Mecanismo de ação dos agentes clareadores

Os agentes clareadores utilizados na descoloração dental não atuam somente nos pigmentos, mas também nos componentes orgânicos e inorgânicos do tecido dental (Haywood, 1992). O peróxido de hidrogênio, peróxido de carbamida e perborato de sódio são as substâncias comumente utilizadas nos tratamentos clareadores,

sendo que os peróxidos de hidrogênio e carbamida são comumente utilizados para as técnicas clareadoras de dentes vitais.

O peróxido de hidrogênio, em suas diversas concentrações, foi uma das primeiras substâncias a ser empregada no clareamento dos dentes (Haywood, 1992). Este possui um efetivo potencial oxidante e tem como subprodutos a água e moléculas de oxigênio (Campos-Martin et al., 2006; Zantner et al., 2006). Embora seja conhecido que o clareamento dental é um processo oxidativo, em que há interação dos radicais livres com as moléculas do pigmento orgânico, o mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio não é completamente compreendido. Os radicais livres, as moléculas de oxigênio e ânions de peróxido de hidrogênio clivam ou reduzem as moléculas de pigmento que apresentam cadeias carbônicas complexas com ligações duplas (Haywood, 1992; Zantner et al., 2006; Braun et al., 2007; Sulieman, 2008; Torres et al., 2014).

O peróxido de carbamida a 10% tem sido considerado padrão ouro no tratamento clareador caseiro (da Costa et al., 2010). Esta substância, quando em contato com o esmalte dental, degrada-se em peróxido de hidrogênio a 3% e ureia a 7%, uma vez que o peróxido de carbamida é consideravelmente instável no meio bucal. Esta reação é lenta e por isso, o gel clareador deve permanecer por um maior período, quando comparado ao gel de peróxido de hidrogênio, em contato com a superfície dental (Leonard et al., 1994; Gerlach, Zhou, 2001; Tredwin et al., 2006). Como vantagem, a ureia aumenta a concentração de íons hidrogênio e por consequência, eleva o pH da solução. Isto pode ser explicado pela degradação da ureia em amônia e dióxido de carbono. Além do mais, um pH elevado requer menos energia para a formação de radicais livres, resultando em um melhor rendimento do processo quando se compara a um meio ácido (Haywood, 1992; Leonard et al., 1994; Tredwin et al., 2006; Sulieman, 2008).

2.3 Técnicas clareadoras de dentes vitais

O clareamento de dentes vitais pode ser realizado por meio de três técnicas: clareamento realizado no consultório odontológico; clareamento caseiro; e

clareamento com produtos de venda direta ao consumidor (*over-the-counter*), sendo os dois primeiros supervisionados pelo Cirurgião-Dentista (Alomari, El Daraa, 2010; Dietschi et al., 2010; de Geus et al., 2016).

O clareamento realizado no consultório consiste na aplicação direta pelo profissional, do agente clareador de altas concentrações na superfície do esmalte dental após a proteção dos tecidos moles. Para esta técnica, as concentrações do gel clareador de peróxido de hidrogênio variam de 25-40%. Comumente, este tratamento resulta em bons resultados após uma única sessão, contudo, para se atingir um clareamento satisfatório para o paciente, são necessárias mais aplicações. O clareamento realizado no consultório emprega o uso de agentes clareadores em altas concentrações e por esta razão, pesquisadores têm estudado a possibilidade de se reduzir o tempo de aplicação do gel clareador e ao mesmo obter um resultado estético satisfatório (Kihn, 2007; Kose et al., 2016).

O primeiro estudo clínico reportando a técnica clareadora caseira foi realizado por Haywood e Heymann em 1989, em que a solução de “Proxigel” era depositada em moldeiras personalizadas. Esta solução continha em sua composição peróxido de carbamida a 10% e o branqueamento dos dentes podia ser notado. Esta técnica ficou conhecida como *Nightguard vital bleaching* (Kihn, 2007). Originalmente preconizava-se o uso do “Proxigel” durante toda a noite, totalizando oito horas, em média, de contato do produto com a superfície do esmalte dental (Haywood, Heymann, 1989).

As vantagens da técnica caseira supervisionada são: apresentar fácil aplicação; redução no tempo de consulta e custos; e segurança quanto aos materiais utilizados (Luque-Martinez et al., 2016). Tanto o peróxido de carbamida como o peróxido de hidrogênio pode ser empregado. Porém, como este procedimento requer um maior período de tempo, a aderência dos pacientes pelo tratamento pode ser um fator para a descontinuação (Bernardon et al., 2010; Luque-Martinez et al., 2016).

Uma recente revisão sistemática concluiu que a eficácia clareadora comparando peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida com relação à alteração de cor medida com escala visual foi semelhante entre os dois agentes, embora a variação da cor determinada por espectrofotômetro (delta E) foi ligeiramente maior para o peróxido de carbamida (Luque-Martinez et al., 2016).

Ao comparar as duas técnicas clareadoras em um estudo clínico, Zekonis et al. (2003) utilizou o peróxido de carbamida a 10% para a técnica caseira e peróxido

de hidrogênio a 35% no clareamento realizado em consultório odontológico, e encontrou que 84% dos participantes relataram que o clareamento caseiro foi mais efetivo e os outros 16% não acharam diferença entre as duas técnicas. Em outro estudo clínico em que foi comparada a satisfação do paciente frente ao tempo de tratamento clareador (caseiro e o realizado em consultório), foi relatado que não houve diferença significativa na alteração de cor entre pacientes que receberam peróxido de carbamida a 10% e 22% ou entre aqueles que utilizaram peróxido de hidrogênio a 35% (Bernardon et al., 2016).

Os produtos de clareamento para venda direta ao consumidor estão disponíveis em farmácias, lojas especializadas e na internet. A grande desvantagem destes sistemas clareadores é a falta de monitoramento de um profissional, o que pode resultar em prejuízos, por vezes severos, aos pacientes. A composição de dentifrícios, enxaguatórios e fitas branqueadoras pode apresentar o peróxido de hidrogênio.

2.4 Enxaguatórios clareadores

Os enxaguatórios são muito utilizados na manutenção da higiene bucal. Desde a década de 70 relata-se o uso de enxaguatório como coadjuvante no controle do mau odor bucal (Pitts et al., 1983). Posteriormente, a fim de promover um melhor desbridamento de inflamações bucais, bem como promover um ambiente menos propício ao crescimento/desenvolvimento de bactérias anaeróbias, o peróxido de hidrogênio foi incorporado nas soluções (Tredwin et al., 2006). No entanto, com o uso de enxaguatório contendo peróxido de hidrogênio para o tratamento de doenças bucais, observou-se que os dentes se tornavam mais claros. Esta condição foi primeiramente relatada por um cirurgião-dentista, especialista em ortodontia, Klusmier em 1968 e posteriormente reportada por Haywood, Heymann (1989).

Desde então, a indústria tem trabalhado no desenvolvimento de enxaguatórios clareadores. Ainda são escassos estudos clínicos que avaliem a eficácia desses agentes no clareamento dos dentes, bem como a longevidade do clareamento proporcionado por estes. Estas soluções contêm de 1% a 2,5% de

peróxido de hidrogênio em suas composições. São produtos de fácil aplicação, baixo custo, e facilmente disponíveis em drogarias e supermercados (Lima et al., 2012).

A associação dos produtos de venda livre ao consumidor (enxaguatório) com o clareamento com peróxido de carbamida 10%, não aumentou a eficácia clareadora; no entanto, eles não foram melhores quando comparado ao grupo que recebeu somente o clareamento com peróxido de carbamida a 10% (Jurema et al., 2018). Os mesmos achados foram observados no estudo de Oliveira et al. (2017), em que o uso de enxaguatório clareador após o clareamento com peróxido de carbamida a 10% associado a exposição dos espécimes a corantes diariamente foi testado. Diferentemente, um estudo que empregou dois enxaguatórios contendo peróxido de hidrogênio a 1,5% e a 2%, verificou alteração da cor dos espécimes bastante satisfatória. Os mesmos eram imersos na solução duas vezes ao dia, durante 1 minuto por 45 dias (Lima et al., 2012).

Ainda, é possível encontrar enxaguatórios clareadores com diferentes modos de aplicação. É disponível enxaguatórios que devem ser usados antes da escovação (*Pre-Brush rinse*) e outros, após a higienização dos dentes. Não está bem estabelecida qual a diferença no mecanismo de ação desses dois tipos de modo de uso. Gerlach et al. (2005) reportaram que o uso de enxaguatório pré-escovação não resultou alteração de cor dos dentes no terceiro dia de avaliação e; no oitavo dia, foi detectado um aumento na coordenada b do sistema CIELAB, mostrando amarelamento dos dentes. A solução utilizada nesse estudo clínico apresentava 2% de peróxido de hidrogênio em sua composição. Com esta mesma concentração de agente clareador na solução enxaguante, um estudo foi realizado e os espécimes de dentes bovinos eram imersos em diferentes soluções (saliva artificial; e em dois tipos de enxaguatórios clareadores) por 2 minutos, 3x/dia (com intervalo de 5 horas entre cada imersão) por 30 dias. Não houve efeito clareador pelos enxaguatórios nas mensurações de 14 dias e 30 dias (Nahsan et al., 2017).

Diferentemente, em um estudo que empregou um enxaguatório clareador, indicado para ser utilizado após a escovação dos dentes, e contendo 1,5% de peróxido de hidrogênio em sua composição, que contribuiu para o aumento da luminosidade dos espécimes que foram clareados após o manchamento com o corante Orange II (Jaime et al., 2014).

A eficácia clareadora dos produtos de venda livre ao consumidor ainda é

controversa e alguns autores tem observado que a eficácia clareadora dos mesmos é menor quando comparada àquelas obtidas com o clareamento convencional com peróxido de hidrogênio a 10% (Jurema et al., 2018). Ainda não há estudos clínicos que verifiquem a eficácia clareadora de enxaguatórios contendo maior porcentagem de peróxido de hidrogênio.

2.5 Alteração da cor dos dentes e métodos para avaliação

A cor é um parâmetro estético de grande importância na Odontologia, seja no resultado das restaurações como no clareamento dental. A cor é percebida por meio da interação entre uma fonte de luz, o objeto e um observador. Quando se trata de cor dos dentes, esta propriedade óptica apresenta uma interpretação mais complexa, uma vez em que os tecidos dentais (esmalte e dentina) apresentam comportamentos distintos frente à incidência de luz devido à composição química de cada um (Joiner et al., 2008).

Quando os dentes são submetidos ao tratamento clareador, tem-se como resultado dentes mais claros e luminosos, devido à opacificação causada pela ação dos géis clareadores. Esta observação está relacionada a uma possível desmineralização causada pelo baixo pH de alguns produtos clareadores e pelo isolamento dos dentes (De Paula et al., 2015). É importante ressaltar que esta condição está mais relacionada ao tratamento clareador realizado no consultório odontológico, uma vez que géis de maiores concentrações são utilizados e os dentes ficam isolados dos fluidos salivares. Ao final do clareamento, interessa saber o quanto o dente teve sua coloração alterada, visto que este aspecto contribui para o sucesso do tratamento e manutenção.

As escalas de cor são amplamente empregadas para se fazer a análise da cor dos dentes. Este método é subjetivo uma vez que é diretamente dependente da iluminação ambiente e do observador (Zenthofer et al., 2014). A escala Vita Clássica é rotineiramente utilizada na prática clínica (Gomez-Polo et al., 2014; Zenthofer et al., 2014; Igiel et al., 2016) e para a avaliação da eficácia clareadora, é recomendável que a escala esteja organizada da cor mais iluminada (B1) para a mais escura (C4)

(Paravina et al., 2007). No entanto, esta escala tem cores restritas para se avaliar a cor de dentes clareados. Foi então desenvolvida uma escala especialmente para este fim. A escala VITA Bleachedguide 3-D Master apresenta maior variação de cor e com guias de dentes mais iluminados (Paravina et al., 2007).

Com o intuito de se minimizar as limitações do método visual, aparelhos clínicos eletrônicos de mensuração de cor podem ser utilizados e são classificados como método objetivo: espectrofotômetros, colorímetros e câmera digital (Dozic et al., 2007; Lehmann et al., 2010; Iguel et al., 2016; Tsiliagkou et al., 2016).

Os espectrofotômetros e colorímetros possuem iluminação padrão integrada e a luz ambiente dificilmente interfere na mensuração de cor (Zenthofer et al., 2014). Os espectrofotômetros tem mostrado maior acurácia clínica e a confiabilidade intra-avaliador e inter-avaliador aceitável (Zenthofer et al., 2014). Os colorímetros mensuram a composição espectral da luz refletida de um objeto em um intervalo de 1 a 25 nanômetros que é convertida em dados tristimulus. Nesses aparelhos, a cor pode ser descrita pelo sistema de cor proposto pela Comissão Internacional de Iluminação (Sistema CIELAB) comumente utilizado em estudos para mensuração de cor dental uma vez que se aproxima visualmente do espaço de cor (Dozic et al., 2007; Johnston, 2009; Tsiliagkou et al., 2016).

Embora diversas metodologias sejam propostas, não há uma técnica padrão ouro para a mensuração de cor dos dentes (Iguel et al., 2016; Tsiliagkou et al., 2016) e ainda há controvérsias na literatura a esse respeito. Alguns trabalhos mostram correlação entre o método subjetivo (escalas visuais) e objetivo (espectrofotômetro) e outros que mostram mínima relação entre esses métodos (Gomez-Polo et al., 2014). Em um estudo comparativo entre o método visual e objetivo, o grau de concordância entre os aparelhos de mensuração de cor e o tipo de dente avaliado diferiu significativamente (Iguel et al., 2016). Devido à maior confiabilidade dos dados gerados pelo espectrofotômetro, a utilização deste aparelho em estudos com o propósito de avaliar a alteração de cor dos dentes é de grande relevância (Zenthofer et al., 2014).

2.6 Potenciais efeitos adversos promovidos por géis clareadores

O efeito adverso mais comum causado pelo clareamento dental,

independentemente da técnica utilizada, é a sensibilidade dental (de Geus et al., 2016). Segundo Bernardon et al. (2016) embora a sensibilidade tenha etiologia multifatorial e pouco compreendida, ela está diretamente relacionada à concentração do agente clareador e ao regime de utilização (de Paula et al., 2015). Ela comumente ocorre durante o tratamento clareador e cessa entre 24-48 horas após o procedimento. A sensibilidade dental atinge 55% a 75% pessoas que aderem ao tratamento clareador e geralmente, é de média intensidade e transitória (Kihn, 2007). É importante ressaltar que a sensibilidade dental está mais comumente relacionada ao clareamento realizado no consultório odontológico, principalmente pelas altas concentrações de gel clareador que são utilizadas nesse procedimento (Kose et al., 2016).

A sensibilidade ocorre pela penetração dos produtos da degradação do peróxido de hidrogênio nos tecidos dentais. Ao se difundir pela dentina, essas substâncias sensibilizam as terminações nervosas, através da via quimiossensitiva, fazendo com que mediadores inflamatórios sejam liberados no tecido pulpar, resultando em danos às células da polpa (Basting et al., 2012; Bonafe et al., 2013; de Paula et al., 2015). Em virtude deste efeito, fabricantes têm adicionado à composição dos géis clareadores, substâncias dessensibilizantes. O nitrato de potássio e o fluoreto de sódio são comumente utilizados nas formulações (Browning et al., 2008; Bernardon et al., 2016).

Browning et al. (2008), em um estudo clínico controlado randomizado, avaliou cinco diferentes formulações de gel de peróxido de carbamida a 10%, em que três agentes tinham diferentes concentrações de nitrato de potássio (0,5%; 5%; combinado com fluoreto de sódio a 0,25%; e a 3%), o outro gel não possuía agente dessensibilizante e outro era placebo. Os autores encontraram que a adição de uma pequena quantidade de nitrato de potássio ao gel de peróxido de carbamida reduziu a sensibilidade pós clareamento sem reduzir a eficácia clareadora. Contudo, ao se comparar o efeito dessensibilizante entre o nitrato de potássio e o fluoreto de sódio, o nitrato de potássio a 3% não reduziu o tempo de sensibilidade dos participantes do estudo.

Em um estudo clínico realizado por Bernadon et al. (2016), foram utilizadas diferentes concentrações de gel clareador de peróxido de carbamida (10%, 15% e 16%) com dessensibilizantes como o nitrato de potássio, fluoreto de sódio e oxalato

de potássio, por 2 horas e no período de 45 dias. Os participantes foram divididos em dois grupos, em que o grupo 1 utilizou peróxido de carbamida 10% com nitrato de potássio e fluoreto de sódio no quadrante direito e peróxido de carbamida 10% com oxalato de potássio e fluoreto de sódio no quadrante esquerdo. Já o grupo 2 teve a aplicação de peróxido de carbamida 15% com nitrato de potássio e fluoreto de sódio no quadrante direito e peróxido de carbamida 16% com oxalato de potássio de fluoreto de sódio no quadrante esquerdo. A associação de oxalato de potássio com fluoreto de sódio foi efetivo, principalmente em relação ao peróxido de carbamida 16%.

O tecido gengival pode também ser afetado pelo procedimento clareador. A irritação gengival está diretamente relacionada à concentração do agente clareador e a duração do clareamento (Li, 2011; Basting et al., 2012). Esta condição ocorre quando são utilizadas moldeiras inapropriadas ou mal adaptadas para o procedimento; aplicação do gel clareador em excesso e de forma não controlada; e quando há utilização do agente clareador por um maior período de tempo do que foi recomendado (Kihn, 2007; Goldberg et al., 2010; Li, 2011). Este incômodo na gengiva é de intensidade média a moderada, geralmente transitória e cessa quando o procedimento finaliza. A sensibilidade dental pode ou não acontecer associada à irritação gengival.

Em um estudo clínico realizado por Zekonis et al. (2003), a irritação gengival foi significativamente maior no clareamento caseiro com gel de peróxido de carbamida a 10% quando comparado ao clareamento realizado no consultório com gel de peróxido de hidrogênio a 35%. Com relação à sensibilidade dental, não houve diferença significativa entre os dois grupos.

Adicionalmente, como efeito adverso resultante do clareamento, estudos reportam a desmineralização do esmalte dental pelo gel clareador. O potencial efeito erosivo do gel clareador sobre a superfície do esmalte tem sido observado, principalmente quando géis que possuem um baixo pH são empregados (Borges et al., 2012). Quando se trata desta condição, a presença de saliva e sua característica remineralizante devem ser levadas em conta quando a desmineralização do esmalte dental é estudada. Foi observado que mesmo uma solução clareadora com pH moderadamente baixo, há um aumento significativo do pH salivar após 15 minutos do tratamento (Leonard et al., 1994). Essa alteração favorável do pH salivar está relacionada à capacidade tampão da saliva, aumento do fluxo salivar e liberação de

ureia pelas glândulas salivares, especialmente pela glândula parótida (Leonard et al., 1994). A desmineralização está geralmente relacionada a um baixo pH do peróxido (Li, 2011). Quando o peróxido está em um meio ácido, o peróxido de hidrogênio torna-se mais estável e sua longevidade é preservada (Torres et al., 2014), portanto, os géis clareadores eram usualmente comercializados em meio ácido visando aumentar o tempo de armazenamento. Em contrapartida, um pH básico resulta em um melhor desempenho do processo clareador. Acredita-se que o controle do pH do gel clareador e seu uso em concentrações mais baixas tendem a reduzir o potencial de desmineralização da estrutura dentária (Torres et al., 2014). Em um meio alcalino, a dissociação do peróxido de hidrogênio é maior, uma vez que a constante de dissociação (pKa) é cerca de 11,5. Desta forma, em um pH de 9, a dissociação do peróxido de hidrogênio é quase três vezes maior do que em um pH de 4,4 (Torres et al., 2014; Luque-Martinez et al., 2016). Há uma diferença nos produtos resultantes da dissociação do peróxido de hidrogênio dependendo do pH do meio. Em uma solução ácida, radicais livres e ânions hidroxilas são produzidos e em meio alcalino são encontrados íons perihidroxil. Muito embora esta diferença seja constatada, ainda não há evidências de que essas interferências desses sub-produtos podem causar na eficácia clareadora (Luque-Martinez et al., 2016).

Embora a desmineralização do esmalte dental tenha sido relacionada a agentes clareadores de alta concentração, há relatos de desmineralização quando géis clareadores de baixa concentração são utilizados. Estudos que avaliam a microdureza e o módulo de elasticidade do esmalte dental e o efeito do gel clareador encontraram que a microdureza e o módulo de elasticidade diminuíram significativamente após a aplicação do produto sobre a superfície dental (Basting et al., 2003; Azer et al., 2009). Porém, Borges et al. (2015) reportaram que a aplicação de diferentes concentrações de gel de peróxido de hidrogênio (20%, 25%, 30% e 35%) não interferiram na microdureza do esmalte. Os géis foram aplicados por 10 minutos repetidas em 3 vezes, totalizando 30 minutos de aplicação.

Em relação a géis de menor concentração, observou-se que a microdureza não foi alterada quando os géis de peróxido de carbamida a 10% e peróxido de hidrogênio a 7,5% foram aplicados por 1 hora/dia durante 21 dias (Sasaki et al., 2009). Desta maneira, este assunto ainda é considerado controverso.

São encontrados na literatura trabalhos *in vitro* que mostram a ação do gel

clareador no esmalte dental, porém estudos in vivo reportando o efeito do agente clareador sobre a estrutura dental são escassos. Em um estudo in situ, foi relatado que a dureza superficial dos blocos de esmalte não foi alterada após o clareamento, porém a textura superficial e a morfologia do esmalte dental sofreram alterações no grupo que foi submetido ao tratamento com peróxido de hidrogênio a 7,5% (Maia et al., 2008). No estudo in vivo de Leonard et al. (2001), o efeito do peróxido de carbamida 10% na superfície do esmalte dental foi avaliado. Os participantes do estudo utilizaram o gel clareador de 8 a 10 horas por dia durante 14 dias. Após o término do clareamento, os participantes foram moldados para que um modelo de resina epóxi fosse confeccionado e a microscopia eletrônica de varredura (MEV) pudesse ser realizada. Seis avaliadores examinaram as imagens do MEV nos tempos: inicial, 14 dias e 6 meses e como resultado, foi encontrado que em 14 dias, não houve nenhuma alteração ou mínima alteração na superfície do esmalte e após seis meses a alteração não tinha piorado.

Quando o agente clareador utilizado em consultório é comparado com o agente clareador utilizado na técnica de clareamento caseiro, Lewinstein et al. (2004) mostrou que os espécimes (n=12) submetidos ao clareamento com peróxido de hidrogênio 35% e com peróxido de carbamida 35% apresentaram redução significativa da microdureza quando comparado com os espécimes que foram submetidos ao peróxido de carbamida nas concentrações 10% e 15%. Após o término do tratamento com os agentes clareadores e microdureza pós clareamento, os espécimes foram imersos em uma solução de 0,05% flúor e foi concluído que os espécimes apresentaram uma melhora na microdureza. Nesse estudo também notado que a alteração na superfície do espécime, seja para o gel clareador com menores concentrações e para os que apresentam concentração mais elevada, é tempo-dependente, assim, quando maior o período de clareamento, menor será a microdureza tanto em esmalte como em dentina. Desta forma, os achados desse estudo corroboram com os resultados de Oshiro et al. (2007), em que foi demonstrado que um dentifrício fluoretado pôde reverter a diminuição do módulo de elasticidade provocado pelo peróxido de carbamida a 10%.

É importante ressaltar que além do gel clareador, outros fatores podem afetar a morfologia do esmalte dental como: a dieta dos pacientes, hábitos de higiene, abrasivos presentes na composição dos dentifrícios (Leonard et al., 2001).

2.7 Potenciais efeitos adversos promovidos por enxaguatórios clareadores

Sensibilidade dental e irritação gengival são efeitos adversos pouco investigados no tratamento clareador com enxaguatórios. Isso pode ser explicado devido à escassez de estudos clínicos randomizados utilizando este tipo de tratamento. Contudo, é possível encontrar estudos *in vitro* que investigam o efeito das soluções clareadoras na superfície do esmalte (Jurema et al., 2018; Torres et al., 2018; Vieira-Júnior et al., 2018).

Os efeitos mais comuns estão relacionados à alteração nas propriedades físicas do esmalte e diminuição da microdureza (Vieria-Júnior et al., 2018). A dureza do esmalte está relacionada à quantidade de minerais contidos nesse substrato dental. A perda de minerais, ou seja, diminuição na microdureza, ocorre no processo de desmineralização do esmalte quando o mesmo é exposto à substâncias com pH ácido. Assim, alguns enxaguatórios apresentam valores de pH baixo e também pelo poder oxidativo dos agentes clareadores podem alterar a microdureza do esmalte.

Adicionalmente, é reportado que como esses tratamentos são indicados para serem feitos por longos períodos, um efeito cumulativo no esmalte (Torres et al., 2018). É importante ressaltar que não somente o pH determina o potencial de desmineralização. Torres et al. (2018) avaliaram o efeito de enxaguatórios clareadores utilizados antes da escovação na microdureza e desgaste do esmalte. Muito embora a microdureza dos espécimes tivesse diminuído devido ao baixo pH (5,03 e 3,01) das soluções contendo 1,5% e 2% de peróxido de hidrogênio, respectivamente; um outro enxaguante empregado na pesquisa com pH de 7,26 também promoveu a diminuição da microdureza. Isto pode estar relacionado a menor concentração mineral na solução. Esta subsaturação promove a perda mineral da estrutura em que a solução está em contato (Shellis et al., 2014; Torres et al., 2018).

É necessário considerar que nos estudos *in vitro* não há ação da saliva humana promotora da formação de película adquirida que é uma barreira natural de proteção e também a formação do tampão salivar, fatores que protegem a estrutura dental da desmineralização. A fim de se investigar tais alterações morfológicas e no conteúdo mineral, alguns estudos empregam a microscopia eletrônica de varredura (Leonard et al., 2001; Maia et al., 2008) e também a técnica de microbiópsia do

esmalte proposto por Brudevold et al. (1975) e, posteriormente modificada por Amaral et al. (2012).

Com a microbiópsia, verifica-se a concentração de cálcio e fósforo de forma prática e sem gerar prejuízos relevantes ao esmalte dental para que os elementos (cálcio e fósforo) sejam analisados (Brudevold et al., 1975). Os minerais são coletados da superfície do esmalte por meio da aplicação de uma solução de ácido clorídrico a 1,6 N diluído em glicerol a 70%. Segundo Amaral et al. (2012), esta técnica é segura para determinar o conteúdo mineral do esmalte em situações clínicas em que o dente está em contato contínuo com a saliva humana que interfere diretamente nos processos desmineralização-remineralização. Esta técnica ainda não foi utilizada em estudos clínicos avaliando o efeito de enxaguatórios no esmalte dental.

2.8 Potenciais impactos de agentes clareadores em lesões incipientes de cárie

O esmalte dental é um tecido que está constantemente exposto aos desafios químicos, forças oclusais e presença de microrganismos, e embora seja um tecido altamente mineralizado, composto por 96% de conteúdo mineral (hidroxiapatita), estes desafios o tornam vulnerável ao desgaste e à desmineralização. Isso também pode estar relacionado ao seu conteúdo orgânico que possui espaços inter cristalinos e microporos, tornando o esmalte uma estrutura semipermeável (Ando et al., 2018; Kidd, Fejerskov, 2004). Por esta razão, diante da presença constante de um desafio químico e presença de microrganismos cariogênicos no biofilme, ocorre a diminuição do pH, levando ao processo de desmineralização, e como resultado, lesões de cárie são formadas.

A cárie é uma doença proveniente da dissolução química localizada da superfície do dente devido a eventos metabólicos no biofilme que está recobrindo a área afetada, resultando em sinais e sintomas clínicos. Assim, o biofilme é um pré-requisito para a formação da lesão de cárie que pode se desenvolver em qualquer lugar da cavidade onde o biofilme se desenvolve e permanece por um período (Fejerskov et al., 2015).

A causa da desmineralização pelo biofilme está relacionada a flutuações de pH, como mencionado anteriormente, que levam a perda de cálcio e fosfato do esmalte. Quando o biofilme não é removido, um ligeiro aumento na porosidade do esmalte é observado, no entanto, a camada mais interna mostrou-se ainda mais porosa do que a própria microsuperfície, caracterizando então a desmineralização subsuperficial (Silverstone, 1973). Dessa forma, é possível observar que há uma proteção da camada mais superficial, ao redor de 10 a 30 micrometro, resultante da dissolução causada por uma subsaturação em relação à apatita do esmalte e formação de fluorapatita na superfície causada por uma supersaturação em relação à fluorapatita (Larsen, 1990).

Assim, com esmalte mais poroso, clinicamente é possível observar a lesão de mancha branca (Fejerskov et al., 2015; Kidd, Fejerskov, 2004) que apresenta uma aparência mais calcária e rugosa dependendo da atividade da lesão. No entanto, esse diagnóstico, nos estágios iniciais da formação de cárie, é extremamente desafiador (Askar et al., 2021) e como os enxaguatórios clareadores a base de peróxido de hidrogênio estão facilmente disponíveis, eles podem ser utilizados pelo consumidor que apresentam tais lesões.

São escassos os estudos que verificaram os efeitos dos peróxidos em esmalte desmineralizado. Foi verificado o efeito do peróxido de carbamida a 10% na microdureza Knoop de superfície e morfologia tanto do esmalte hígido como no esmalte com lesões iniciais de cárie artificial, após ciclagem de pH (Pinto et al., 2009) encontraram que os procedimentos clareadores no esmalte com lesão de cárie não exacerbaram a desmineralização. Corroborando com esses resultados, um estudo comparando géis clareadores a base de peróxido de carbamida a 10% com diferentes concentrações de cálcio e flúor mostrou que a adição dos minerais aos agentes clareadores caseiros foi capaz de minimizar os efeitos adversos do peróxido na desmineralização da superfície e subsuperfície do esmalte, bem como a progressão da profundidade da lesão (Cavalli et al., 2011).

Este efeito observado nos estudos mencionados pode ser atribuído a própria característica fortemente oxidativa do peróxido de hidrogênio que também atua no conteúdo orgânico do esmalte, facilitando então a difusão dos íons fluoreto na porosidade subsuperficial do esmalte. Este processo químico poderia ser ainda mais favorecido com o uso de enxaguatórios que requerem um maior tempo de uso quando

comparado aos géis clareadores. Um estudo *in vitro* avaliou o efeito de enxaguatórios clareadores no esmalte desmineralizado e artificialmente manchado, com análises de microdureza da superfície, teor de flúor do esmalte e mudança de cor do esmalte, usando uma ciclagem de pH (Al-Shahrani et al., 2020). As lesões de cárie de esmalte artificialmente manchadas mostraram reduzida suscetibilidade à remineralização de flúor e ao efeito clareador. Isso pode ser explicado devido a deposição de pigmentos provenientes do manchamento nos cristais do esmalte, diminuindo assim sua capacidade de remineralizar ou desmineralizar ainda mais (Al-Shahrani et al., 2020).

Fica então evidente a necessidade de estudos para fornecer maiores evidências em relação a utilização dos enxaguatórios clareadores no tecido desmineralizado. Devido ao seu forte efeito oxidativo, o peróxido de hidrogênio poderia favorecer a difusão dos íons flúor na porosidade subsuperficial do esmalte. O processo de remineralização da lesão incipiente de carie exige o acesso de íons cálcio, fosfato e flúor na subsuperfície do esmalte. No entanto, como as proteínas salivares como a prolina e a estearina são macromoléculas, elas podem obliterar parcialmente as porosidades da superfície do esmalte, dificultando a difusão interna dos íons cálcio e fosfato (Kidd, Fejerskov, 2004; Robinson et al., 1990). Assim, como uma forma de aumentar a deposição desses minerais na subsuperfície, o uso de agentes desproteinizantes foi proposto (Robinson et al., 1990), uma vez que a condição ácida contribui para o crescimento da hidroxiapatita por meio da dissociação de aglomerados de fosfato de cálcio em íons cálcio e fosfato (Banfield et al., 2000; Yamagishi et al., 2005). Por essa razão, o uso de agentes clareadores suplementados com flúor poderia favorecer a difusão dos íons flúor na porosidade subsuperficial do esmalte. Isso seria ainda mais evidente com o uso prolongado de enxaguatórios clareadores contendo flúor.

3 PROPOSIÇÃO

A proposta do presente estudo foi avaliar a eficácia e segurança do enxaguatório clareador sobre o esmalte sadio e desmineralizado. Para isso, este estudo foi dividido em duas partes, sendo elas um estudo clínico controlado randomizado e um estudo *in vitro*:

- a) a proposta da primeira parte foi comparar, por meio de um estudo clínico randomizado controlado, a eficácia e segurança do enxaguatório clareador a base de peróxido de hidrogênio a 2,5% com um enxaguatório placebo e com o clareamento caseiro com gel a base de peróxido de carbamida a 10%. Como objetivos específicos, foram avaliados a alteração de cor dos dentes; risco absoluto e intensidade de sensibilidade; risco absoluto e intensidade de inflamação gengival; potencial de desmineralização do esmalte e satisfação do participante.
- b) a proposta da segunda parte foi comparar por meio de um estudo *in vitro*, o efeito do enxaguatório clareador a base de peróxido de hidrogênio a 2,5% no potencial de desmineralização do esmalte sadio e em lesões incipientes de cárie durante um desafio cariogênico.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O estudo clínico controlado randomizado foi registrado na plataforma virtual “Plataforma Brasil” (<http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/login>) e foi obtida a aprovação do comitê de ética do Instituto de Ciência e Tecnologia – UNESP para que o estudo pudesse ser iniciado (ANEXO A). A escrita do projeto seguiu as recomendações do SPIRIT 2013 (*Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials*) (Moher, Chan, 2014). Após a aprovação do comitê de ética, o presente estudo também foi registrado no “Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos” (ReBEC) e obteve o seguinte número de identificação: RBR-8SVBBF. Este estudo foi reportado de acordo com as normas do CONSORT (*Consolidated Standards of Reporting Trials*) (Schulz et al., 2010).

O estudo *in vitro* não foi submetido para análise na Comissão Ética no Uso de Animais (CEUA), pois utilizou dentes bovinos como substrato comercialmente disponível, em concordância com a Lei Arouca (Lei n 11.794 de 08/10/2008).

4.2 Parte 1 – Estudo clínico randomizado controlado: Eficácia e segurança do tratamento clareador com um enxaguatório a base de peróxido de hidrogênio a 2,5%

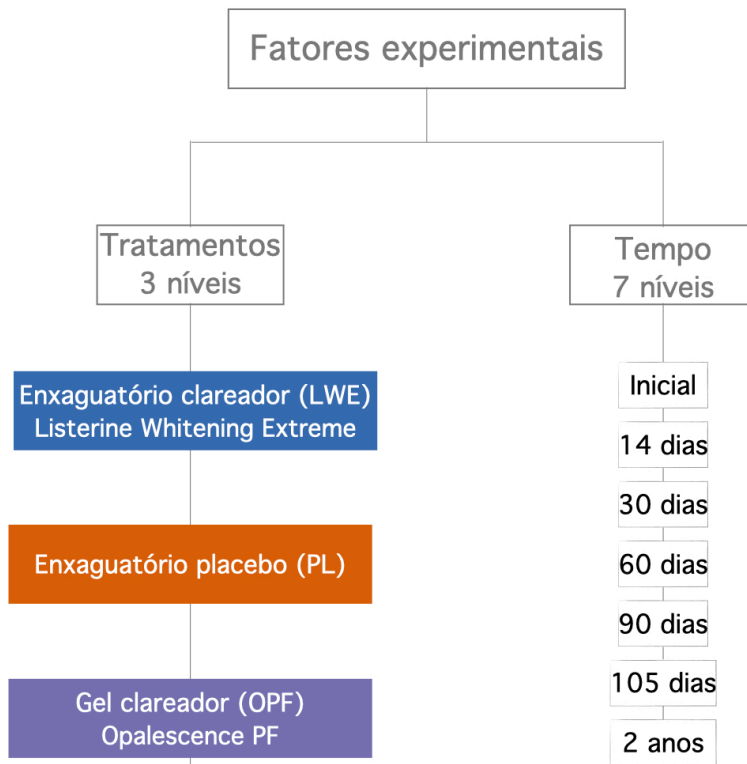
4.2.1 Desenho do estudo

Este estudo clínico randomizado controlado prospectivo seguiu um modelo paralelo totalmente aleatorizado com dois fatores experimentais, de acordo com o desfecho primário do estudo (alteração de cor dos dentes): tratamentos (em três níveis) e tempo (em sete níveis) (Figura 1).

O desfecho primário determinado foi a alteração de cor dos dentes. Os desfechos secundários do estudo foram a sensibilidade dental, condição gengival, potencial de desmineralização do esmalte e satisfação dos participantes.

Para a formulação da pergunta de pesquisa, os seguintes parâmetros foram definidos: P- pacientes que buscam clarear os dentes (descoloração dental) e que não tenham sido submetidos a este tratamento previamente; I- clareamento com enxaguatório clareador a base de peróxido de hidrogênio a 2,5%; C- clareamento com moldeira personalizada com peróxido de carbamida a 10%; O- eficácia clareadora. Assim, a pergunta de pesquisa foi definida: o clareamento com enxaguatório clareador a base de peróxido de hidrogênio a 2,5% apresenta eficácia clareadora quando comparado ao clareamento com moldeira personalizada com peróxido de carbamida a 10% em pacientes com descoloração dental?

Figura 1– Delineamento experimental



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.2 Cálculo amostral

A determinação do tamanho amostral foi baseada no desfecho primário do presente estudo. O cálculo foi realizado no software G*Power (Erdfelder et al., 2009), selecionando a família do teste estatístico utilizado para analisar os dados, testes F, e posteriormente o teste estatístico em si, ANOVA de medidas repetidas, entre-dentre (*between-within*) interações. Após esta etapa, foi necessário determinar o tamanho do efeito, e para isso, foi considerada a variância de 1,64 com base no efeito clareador verificado em estudos prévios (Mailart et al., 2021a; Torres et al., 2013a). Com o tamanho do efeito de 0,783, poder de 80% e nível de significância de 5%, e considerando os 3 tratamentos, bem como as mensurações da cor dos dentes que seriam realizadas, seriam necessários 9 pacientes por grupo. Como possíveis perdas ou desistências por parte dos participantes poderiam ocorrer após 2 anos de acompanhamento, 15 pacientes por grupo foram selecionados, resultando em um total de 45 participantes.

4.2.3 População de estudo

Os participantes foram recrutados na clínica do Departamento de Odontologia Restauradora do Instituto de Ciência e Tecnologia – São José dos Campos, UNESP, São Paulo, Brasil. Na primeira visita, os participantes receberam orientações verbais sobre o estudo, incluindo todos os procedimentos envolvidos. Possíveis riscos e a confidencialidade dos dados também foram informados. As informações foram descritas na “Informação ao Participante” e no “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (Resolução no. 196 do Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Distrito Federal, Brasil, 10/03/1996) (APÊNDICES A e B). Participantes e pesquisadores assinaram duas cópias, uma ficou com os pesquisadores e a outra com o participante. A anamnese foi preenchida e todos os participantes foram submetidos ao exame clínico. Baseado nas informações coletadas, os critérios de elegibilidade foram adotados (Quadro 1).

Quadro 1 – Critérios de elegibilidade adotados no estudo

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Ter no mínimo 18 anos de idade	Uso de medicamentos para tratamento de doenças crônicas ou reação alérgica às substâncias utilizadas no estudo
Boa saúde geral	Fumante
Ausência de recessão gengival, sinais clínicos de lesões cervicais não cariosas ou cárie ativa, doença periodontal, fluorose ou defeito de desenvolvimento no esmalte	Gravidez ou intenção de engravidar durante o estudo
Não utilizar aparelho ortodôntico ou prótese removível	Apresentar problemas gastrointestinais como úlcera e/ou refluxo
Apresentar todos os dentes – Do primeiro molar a primeiro molar superiores e inferiores	Presença de restaurações nos dentes anteriores
Não ter sido submetido ao clareamento dos dentes previamente	Uso de produtos à base de fluoretos ou dessensibilizantes
Disponibilidade de retorno para o acompanhamento	Presença de sensibilidade dental
Cor dos dentes A2 ou mais escuros- amarelos	Bruxismo
Boa condição gengival – ausência de inflamação ou irritação	

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os participantes receberam instruções de que poderiam desistir do tratamento em qualquer momento do estudo por qualquer razão, se assim desejassem. Se o participante fosse excluído do estudo devido a alguma condição médica, ele seria encaminhado para os profissionais para tratar de sua necessidade. Os participantes foram treinados em relação a cada procedimento envolvido no estudo.

Para contribuir com a calibração dos examinadores bem como na verificação da acurácia do espectrofotômetro clínico, cinco voluntários que não participaram da intervenção foram recrutados para um controle da acurácia de mensuração do espectrofotômetro, bem como para a calibração dos examinadores no método subjetivo.

4.2.4 Sequência de alocação aleatória e implementação

Após a seleção dos participantes de acordo com os critérios de elegibilidade, eles foram alocados aleatoriamente em três grupos de tratamento, em um mesmo tempo, por meio do software estatístico online “RANDOM.ORG True Random Number Service (<http://www.random.org>)”, na sessão “Numbers”, item “Sequence generator”. Para identificação de cada participante e divisão do grupo, os limites da sequência foram preenchidos do menor valor (1 - primeiro participante) ao valor maior (45 – último participante), divididos em três colunas (três tratamentos). Esta lista numérica foi preparada por um pesquisador não envolvido no estudo, e os resultados foram transferidos para envelopes selados com o número de cada paciente e o respectivo grupo.

4.2.5 Cegamento

Os participantes, operador e examinadores estavam cegos para o tratamento com os enxaguatórios (teste e placebo). Os participantes e o operador não estavam cegos para o tratamento clareador caseiro com peróxido de carbamida a 10%, uma vez que a moldeira não podia ser mascarada. Contudo, examinadores estavam cegos durante a avaliação da cor dos dentes, sensibilidade, condição gengival, potencial desmineralização do esmalte e satisfação do participante.

4.2.6 Calibração dos examinadores para a mensuração de cor subjetiva

Previamente à calibração, os dois examinadores (A.B.B. e K.C.S) foram submetidos a um teste de avaliação quantitativa da capacidade de discriminação de cor proposto pela ISO/TR 28642 (dentistry–guidance on color measurement) (Dudea et al., 2016; Poljak-Guberina et al., 2011; The International Organization for

Standardization, 2016). Para isso, os examinadores utilizaram duas escalas de cor (Vita Bleachedguide 3D Master) idênticas. Os tabs foram removidos do suporte da escala e foram posicionados sobre um fundo cinza. Os tabs de uma das escalas tiveram os códigos de cor visíveis e os tabs da outra escala tiveram os códigos de cor mascarados. Assim, os examinadores combinaram os 15 pares e a porcentagem dos acertos foi classificada como alta ou superior (85% de acerto nas combinações).

Após esta etapa e a fim de calibrar os examinadores para a avaliação subjetiva da cor dos dentes, cinco voluntários que não participaram da intervenção foram selecionados para este processo. Os examinadores avaliaram separadamente os incisivos centrais superiores em dois momentos distintos com um intervalo de 48 horas. A cor dos dentes foi verificada com as escalas de cor Vitapan Classical e VITA Bleachegduide 3D-MASTER. O grau de concordância intra and inter-examinadores obtido após as avaliações foi de 85-100%, o que permitiu o início da fase experimental do estudo (APÊNDICE C) (Auschill et al., 2012; Bonafé et al., 2015; Paravina et al., 2015; Kose et al., 2016).

4.2.7 Controle da acurácia do método objetivo para mensuração da cor dos dentes

O controle da acurácia do espectrofotômetro de uso clínico (Vita Easyshade – Vita Zahnfabrik, BadSäckingen, Germany) foi realizado por meio da mensuração da cor dos dentes dos mesmos cinco voluntários que não participaram do estudo e que foram recrutados para o processo de calibração dos examinadores. As mensurações com o espectrofotômetro foram realizadas nos seguintes tempos: início; após um, dois e três meses do início dos tratamentos; e após 2 anos do término dos tratamentos. Os incisivos centrais foram avaliados três vezes para que uma média fosse obtida de cada dente. A fim de garantir a acurácia do aparelho, o valor não deveria exceder a alteração de cor clinicamente perceptível (1,2) (Paravina et al., 2015) entre as mensurações (APÊNDICE D).

4.2.8 Procedimentos laboratoriais

Os participantes alocados no grupo de tratamento com gel clareador foram submetidos à moldagem com alginato para que as moldeiras personalizadas superior e inferior fossem confeccionadas. Após a obtenção dos modelos, uma fina camada (~ 1 mm de espessura) de resina fotopolimerizável “Opal-Dam” (Ultradent Products, Inc. South Jordan/USA) foi aplicada, recobrando a superfície vestibular dos dentes nos modelos de gesso. A aplicação desta resina teve como objetivo criar um reservatório para que o gel clareador fosse acomodado na moldeira durante o uso. As moldeiras foram então confeccionadas em uma plastificadora à vácuo “Plastvac-P7” (Bio-Art Equipamentos Odontológicos Ltda. São Carlos/SP, Brasil). Após esta etapa, esperou-se o resfriamento completo das moldeiras ainda no modelo de gesso, e então, as moldeiras foram recortadas de maneira que a borda da moldeira ficasse 1 mm acima da gengiva marginal. O recorte da moldeira foi realizado com uma tesoura fina, seguindo a anatomia do contorno da margem gengival. Após o recorte, as extensões das moldeiras foram verificadas no modelo e, para criar um selamento apropriado e proporcionar correta adaptação, as bordas foram aquecidas com uma lamparina do tipo *hannau*. Assim, foi realizada uma leve pressão digital da borda aquecida de encontro ao modelo. Ao final do processo de confecção das moldeiras, elas foram higienizadas e armazenadas no porta-moldeiras.

4.2.9 Procedimentos clínicos – Intervenção

Para os participantes do grupo OPF (gel clareador), as moldeiras foram posicionadas nos arcos dentais para a verificação da adaptação e conforto. Os participantes foram orientados em como posicionar as moldeiras na boca, bem como a quantidade apropriada de gel clareador a ser dispensada na moldeira. O agente clareador utilizado neste grupo foi o peróxido de carbamida a 10% (Opalescence PF, Ultradent Products, Inc. South Jordan/USA) e este tratamento foi realizado 1x/dia por 2 h durante 14 dias.

Para os participantes do grupos LWE (enxaguatório clareador) e PL (enxaguatório placebo), os produtos foram entregues de forma cega aos participantes que usaram 2x/dia por 30 s durante 90 dias. Os participantes foram orientados a enxaguar a boca com 15 ml da solução após a escovação dos dentes. Para o controle da quantidade exata a ser utilizada, os participantes foram orientados a preencher o reservatório contido na tampa do frasco com a solução a ser bochechada. Os enxaguatórios foram utilizados sem diluição e os participantes também foram orientados a não engolir e a não comer ou beber durante 30 min após o uso dos enxaguatórios, seguindo a recomendação de uso proposta pelo fabricante.

O operador supervisionou todos os grupos durante todo o período de estudo, para que o uso inadequado dos produtos fosse evitado. A especificação de cada produto está descrita no quadro 2.

Quadro 2 – Descrição dos produtos empregados no estudo

Tratamento	Nome do produto comercial	Composição*	pH [#]	[ppm F] [*]	[ppm F] [#]	Fabricante
Enxaguatório clareador	Listerine Whitening Extreme	Água; álcool; peróxido de hidrogênio a 2,5%; aroma; poloxamer 407; sacarina sódica; mentol; ácido fosfórico; fosfato dissódico; fluoreto de sódio (100 ppmF); sucralose.	3,67±0,03	100	114,00±0,36	Johnson & Johnson Ltda, São José dos Campos/SP, Brasil
Enxaguatório placebo	Produto não comercial	Água; álcool; aroma; poloxamer 407; sacarina sódica; mentol; ácido fosfórico; fosfato dissódico; fluoreto de sódio (100 ppmF); sucralose.	3,71±0,02	100	126,20±1,93	Johnson & Johnson Ltda, São José dos Campos/SP, Brasil
Gel clareador	Opalescence PF	Glicerina; 20% água; xilitol; peróxido de carbamida a 10%; carbômero; PEG-300; ácido poliacrílico; hidróxido de sódio; EDTA; nitrato de potássio a 0,5%; fluoreto de sódio (1130 ppmF).	6,35±0,02	1130	1055,20±10,68 /23,40±3,86 [†]	Ultradent Products, Inc. South Jordan/USA

Legenda: *Informação de acordo com *safety data sheet* disponível online; [#]de acordo com as mensurações realizadas no estudo (media±desvio-padrão); [†] Flúor liberado; [ppm F]: concentração de flúor em ppm.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.10 Avaliação da cor dos dentes

Previamente ao início da intervenção, os participantes da pesquisa receberam instruções de higiene e foram submetidos à profilaxia com um *slurry* de pedra-pomes e água. Eles também receberam um kit contendo uma escova dental macia de cabeça pequena (JOHNSON'S® Eco, Johnson & Johnson) e um dentífrico fluoretado (Colgate Proteção Anticáries, Colgate-Palmolive, Brasil) para a padronização da higiene bucal uma semana antes do início da pesquisa. Após este período, os participantes foram agendados para dar início às intervenções. Para isso, os participantes foram submetidos a avaliação inicial da cor dos dentes. O incisivo central superior (dente 11) foi o dente selecionado para ser avaliado. A cor do dente foi avaliada subjetivamente com as escalas de cor Vitapan Classical e VITA Bleachedguide 3D-Master, de acordo com as recomendações da Associação Dental Americana (ADA), e com o espectrofotômetro de uso clínico (Vita Easyshade). As guias de cor das escalas receberam uma identificação numérica como mostrado na figura 2.

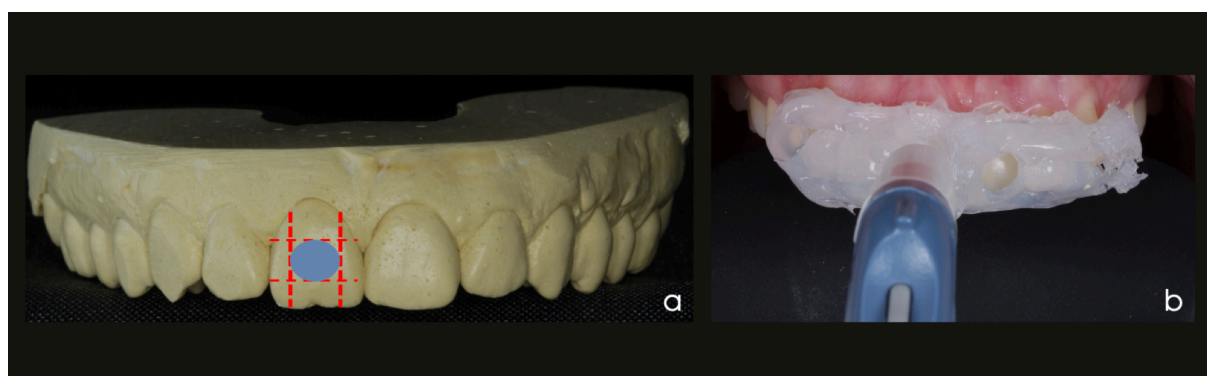
Figura 2 – Figura esquemática das escalas de cor com a identificação numérica correspondente



Fonte: Elaborado pelo autor.

Já para a avaliação objetiva da cor, um guia de silicone transparente (Registrado Clear, Voco GmbH, Cuxhaven, Germany) personalizado foi confeccionado no arco dental superior de cada participante com o objetivo de se padronizar o posicionamento da ponta do espectrofotômetro no terço médio da face vestibular do dente a ser avaliado. Figura 3 mostra a padronização da posição do espectrofotômetro no momento da realização da mensuração da cor.

Figura 3 – Guia de silicone personalizado para o posicionamento do espectrofotômetro no arco dental de cada participante



Legenda: a) Identificação do terço médio da face vestibular do dente e; b) Posicionamento do espectrofotômetro na superfície do dente.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os parâmetros de cor obtidos com o espectrofotômetro de uso clínico seguiu o sistema CIELAB, desenvolvido pela Comissão Internacional de Iluminação [Commission Internationale d'Eclairage (CIE)], no qual os valores de L^* estão relacionados à luminosidade e compreendem os valores de 0 a 100; os valores de a^* correspondem às cores do eixo vermelho-verde; e os valores de b^* correspondem ao eixo amarelo-azul. Os valores foram registrados apropriadamente para cada participante e o valor de alteração de cor geral do dente foi expresso pelos sistemas CIELAB (ΔE_{ab}) e CIEDE2000 (ΔE_{00}), bem como pelo Índice de Branqueamento (Whiteness Index for Dentistry - WI_D) de acordo com as seguintes fórmulas:

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Onde, ΔE^*_{ab} indica a diferença de cor geral obtida pelo sistema CIELAB, ΔL^* indica a diferença nos valores de luminosidade, Δa^* indica a diferença nos valores do eixo vermelho-verde, e Δb^* indica a diferença nos valores do eixo amarelo-azul.

$$\Delta E_{00} = \sqrt{\left(\frac{\Delta L'}{K_L S_L}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H}\right)^2 + R_T \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right) \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H}\right)}$$

Onde, ΔE_{00} indica a diferença de cor geral obtida pelo sistema CIEDE2000, $\Delta L'$ indica a diferença nos valores de luminosidade, $\Delta C'$ indica a diferença nos valores de croma, $\Delta H'$ indica a diferença nos valores de matiz. K_L , K_C , K_H são fatores paramétricos para a luminosidade (L), croma (C), e matiz (H), respectivamente. S_L , S_C , S_H são funções de ponderação para luminosidade (L), croma (C), e matiz (H), respectivamente.

$$W_I_D = 0.511L^* - 2.324a^* - 1.100b^*$$

Onde, W_I_D indica o valor geral de branqueamento, L indica os valores de luminosidade, a indica os valores do eixo vermelho-verde, e b^* indica os valores do eixo amarelo-azul.

Para calcular as diferenças (Δ) na alteração de cor (CIELAB e CIEDE2000) e em cada parâmetro das coordenadas do CIELAB nos referidos tempos avaliados (14, 30, 60, 90, e 105 dias e após 2 anos do tratamento), os valores mensurados nesses tempos foram subtraídos dos valores iniciais (previamente aos tratamentos). O grau de branqueamento foi verificado nos referidos tempos avaliados.

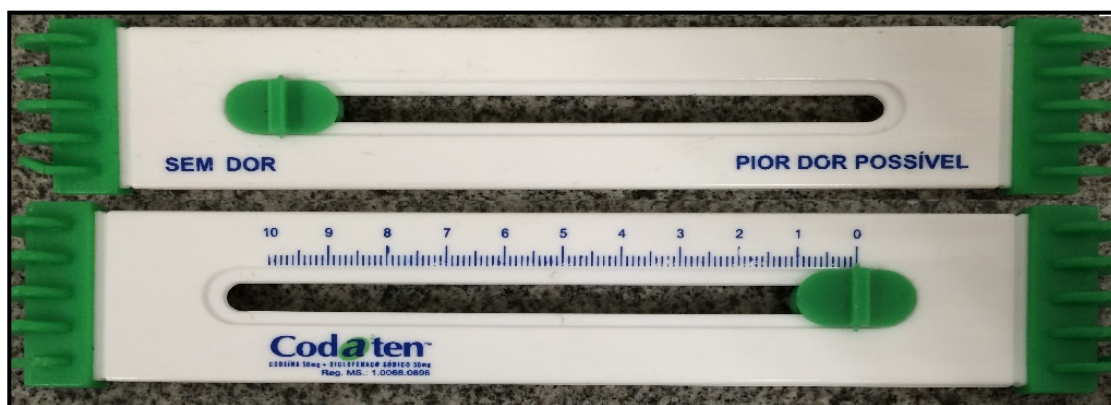
4.2.11 Avaliação da sensibilidade dental

A sensibilidade dental foi avaliada tanto em relação ao risco absoluto de sensibilidade como em relação a intensidade de sensibilidade reportada pelos

participantes. O risco absoluto foi calculado pela porcentagem de participantes de um grupo que reportaram presença de sensibilidade em algum momento do estudo em relação ao número total de participantes do grupo em questão. Já a intensidade da sensibilidade foi avaliada com o auxílio de uma escala visual análoga (Figura 4). Nessa escala, o participante posicionava o cursor da escala no local em que ele julgasse adequado a sua condição, de “sem dor” a “pior dor possível”. Como no lado oposto havia uma escala numérica, foi possível quantificar a dor (intensidade) reportada pelos participantes.

Esta avaliação foi realizada em diferentes tempos em todos os grupos de tratamento: um, sete, quatorze, trinta, sessenta e noventa dias após o início do tratamento.

Figura 4 – Escala visual análoga com escala numérica no lado oposto



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.12 Avaliação da condição gengival

A condição gengival dos participantes foi primeiramente avaliada clinicamente sob constante iluminação e com o uso de afastador labial e um espelho clínico e sonda periodontal. Para qualificar a condição do tecido gengival diante do aspecto clínico apresentado, o índice de Løe foi utilizado (Quadro 3) (Løe, 1967). Assim como descrito

no item 4.2.12, foi possível também avaliar o risco absoluto de inflamação gengival, bem como a intensidade (grau de inflamação gengival) pelo índice de Løe.

Esta avaliação foi realizada em diferentes tempos em todos os grupos de tratamento: um, sete, quatorze, trinta, sessenta e noventa dias após o início do tratamento.

Quadro 3 – Descrição do índice de Løe

Grau	Descrição
G0	Tecido gengival normal
G1	Inflamação média: discreta alteração de cor, discreto edema. Sem sangramento à sondagem
G2	Inflamação moderada: vermelhidão, edema e tecido gengival brilhante. Sangramento na sondagem
G3	Inflamação severa: vermelhidão evidente. Ulceração. Tendência ao sangramento espontâneo

Fonte: Løe (1967).

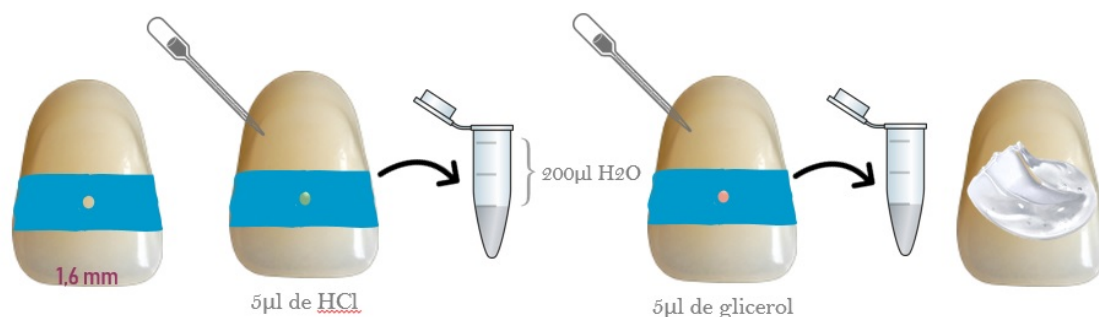
4.2.13 Avaliação do potencial de desmineralização do esmalte – Microbiópsia do esmalte e quantificação da concentração de cálcio e fosforo

A microbiópsia foi um procedimento clínico realizado com o objetivo de se coletar o conteúdo mineral do substrato dental para posterior quantificação da concentração dos íons cálcio e fosforo (do Amaral et al., 2012). Todo o campo operatório foi isolado relativamente com afastador labial e roletes de algodão. A área do dente a ser submetida à microbiópsia foi isolada com uma fita adesiva de forte fixação, contendo um orifício de ~1,6 mm de diâmetro. Neste orifício, foi aplicado 5 µl de 1,6 N de ácido clorídrico em glicerol a 70%. A solução foi agitada com o auxílio da ponta da pipeta por 20 s e então, o conteúdo foi transferido para um tubo Eppendorf contendo 200 µl de água deionizada. Em seguida, 5 µl de glicerol a 70% foi aplicado novamente na mesma área exposta e por 10 s ele foi agitado. O conteúdo foi então transferido para o mesmo tubo. Ao final deste procedimento, a fita adesiva foi

removida, foi realizada lavagem abundante com água e flúor neutro foi aplicado sobre a superfície do dente (Figura 5). O tubo Eppendorf contendo a amostra coletada foi congelado a -80°C para posterior análise colorimétrica para quantificação do conteúdo mineral.

Este procedimento foi realizado em diferentes tempos em todos os grupos de tratamento: inicial, ao final dos tratamentos (90 dias para os enxaguatórios e 14 dias para o clareamento caseiro), e uma semana após o término dos tratamentos. Assim, a microbiópsia foi realizada no dente 12 no início do estudo, na mesial do dente 22 ao final dos tratamentos e na distal do dente 22 uma semana após o término dos tratamentos.

Figura 5 – Esquema do passo-a-passo da microbiópsia do esmalte



Fonte: Elaborado pelo autor.

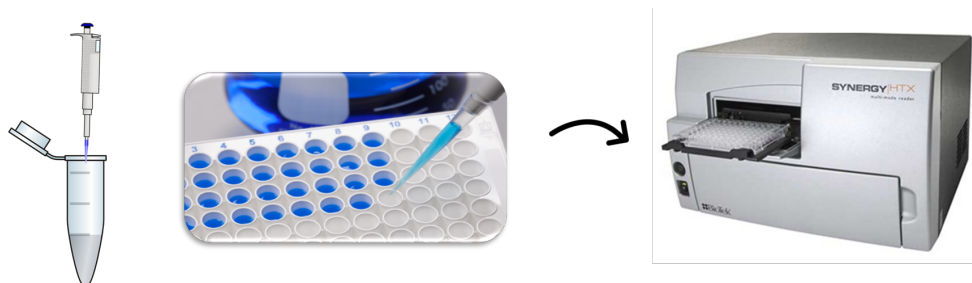
Previamente a quantificação da concentração de cálcio e fósforo nas amostras coletadas, foi necessário confeccionar curvas-padrão para ambos os minerais para posterior mensuração do conteúdo mineral nas amostras coletadas. As leituras foram realizadas em um leitor de microplacas com função espectrofotométrica (Synergy™ HTX Multi-Mode Microplate Reader) separadas para cada substância a ser analisada (cálcio e fósforo) (Figura 6). As amostras coletadas foram então descongeladas 20 min antes da análise ser realizada. Cada tubo foi agitado em um vórtex por 10 s para que houvesse homogeneidade na solução a ser analisada. As leituras para verificar a concentração de cada mineral foram realizadas separadamente.

Para a mensuração do cálcio, foi utilizado um kit colorimétrico contendo um reagente químico a base de Arsenazo III (CÁLCIO ARSENAZO III – K051. Bioclin, QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda, Belo Horizonte, Brasil). O cálcio reage com o Arsenazo III em meio ácido, formando uma solução de coloração azul, variando sua intensidade de acordo com a concentração do mineral presente na solução. 120 µl de amostra foi coletada e depositada na microplaca e então, 120 µl do reagente foi adicionado. A microplaca foi posicionada no leitor que quantificou a concentração de cálcio em cada poço da microplaca.

Para a mensuração de fósforo, foi utilizado um kit colorimétrico a base de molibdato de amônio (Fosforo – K050. Bioclin, QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda, Belo Horizonte, Brasil). O fósforo inorgânico reage com o molibdato de amônio, formando fosfomolibdato de amônio, que posteriormente é reduzido a azul de molibdênio, cuja intensidade de cor desenvolvida é proporcional à concentração de fósforo presente na amostra.

Desta forma, com a formação de uma solução colorida decorrente da reação com os reagentes colorimétricos, a concentração dos minerais foi determinada pela absorbância de acordo com a Lei de Lambert-Beer.

Figura 6 – Esquema da coleta das amostras no tubo Eppendorf até o posicionamento das mesmas no leitor de microplacas



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.14 Avaliação da satisfação do paciente

Para a avaliação da satisfação dos participantes, uma série de perguntas baseada em um questionário utilizado em um estudo prévio (Mailart et al., 2021) foi aplicada. As perguntas tiveram como objetivo conhecer e entender os desafios que os participantes experienciaram durante o estudo (Quadro 4). Questões sobre a satisfação em relação a cor dos dentes após o tratamento; alteração no paladar; sensação de queimação na gengiva, estômago e garganta; e xerostomia foram abordadas. Esta série de perguntas foi aplicada ao final da intervenção. Como forma de avaliar os hábitos alimentares, bem como a satisfação dos participantes após dois anos do término do tratamento, uma outra série de perguntas foi aplicada (Quadro 5).

Quadro 4 – Série de perguntas aplicada ao participante no final do tratamento

Questões	SIM	NÃO
1. Você ficou satisfeito com a mudança de cor dos seus dentes?		
2 Paladar		
2.1. Durante o tratamento, você sentiu gosto ruim na sua boca?		
2.2. Você notou alguma mudança no paladar?		
3 Efeitos adversos		
3.1. Você teve sensação de queimação na gengiva?		
3.2. Você teve sensação de queimação no estômago?		
3.3. Você teve sensação de queimação na garganta?		
3.4. Você teve xerostomia (sensação de boca seca)?		
4. Você teve dificuldade em comer/beber alimentos/bebidas quentes, geladas, ácidas ou doces?		

Fonte: Mailart et al. (2021).

Quadro 5 – Série de perguntas aplicada ao participante após dois anos de acompanhamento

PARTE A									
Bebidas/alimentos	1×/dia	2 ou 3×/dia	4× ou mais/dia	1×/sem.	2× ou mais/sem.	1×/mes	2× ou mais/mes	Raramente	Nunca
Café Vinho tinto Coca-cola Suco de uva integral Chá Açaí Mirtilo Amora Beterraba Molho shoyu Molho de tomate Mostarda Ketchup									
PARTE B									
SIM						NÃO			
1. Você indicaria o tratamento clareador que você realizou para um amigo ou familiar?									
2. Você realizaria o tratamento novamente?									
3. Você está satisfeito com a cor dos seus dentes?									
4. Você percebeu se houve amarelamento dos seus dentes?									
5. Grau de amarelamento									
0									
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2.15 Delineamento estatístico

As hipóteses de nulidade formuladas foram:

H01: Não há diferença entre os tratamentos em relação a alteração de cor dos dentes nos referidos tempos.

H02: Os tratamentos não promovem sensibilidade (risco absoluto e intensidade).

H03: Os tratamentos não promovem alteração da condição gengival (risco absoluto e intensidade).

H04: Não há diferença entre os tratamentos em relação à concentração de cálcio e fósforo nos referidos tempos.

Os testes estatísticos foram realizados para as variáveis: alteração de cor; sensibilidade (risco absoluto e intensidade); e potencial de desmineralização do esmalte (conteúdo mineral) nos tempos analisados. Para a avaliação da alteração de cor com o espectrofotômetro de uso clínico, a estatística descritiva consistiu no cálculo de médias e desvio-padrão do dente 11. Para a estatística inferencial, foram aplicados os testes ANOVA de medidas repetidas e teste de comparações múltiplas de Tukey, nos referidos tempos avaliados. Para os dados obtidos com as escalas de cor, por se tratar de score, os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis (comparação entre os grupos em cada tempo avaliado) e Friedman (comparação do grupo nos referidos tempos avaliados) foram adotados. Ainda, como houve a fase acompanhamento após 2 anos do término dos tratamentos e alguns participantes não compareceram para a análise de cor dos dentes, configurando perda nos grupos de tratamento, a análise estatística foi realizada considerando somente os dados dos participantes que compareceram na avaliação. Esta análise então configura o *per protocol*. Para a avaliação da sensibilidade dental, a comparação entre as técnicas clareadoras em relação ao risco absoluto, o teste exato de Fisher com correção de Bonferroni foi aplicado. Para a intensidade de sensibilidade, o teste ANOVA medidas repetidas e teste de múltiplas comparações de Tukey foram aplicados. Os dados da concentração dos minerais para avaliação do potencial de desmineralização foram avaliados com o teste ANOVA de medidas repetidas e teste de múltiplas comparações de Tukey. O nível de significância adotado nas análises foi de 5%.

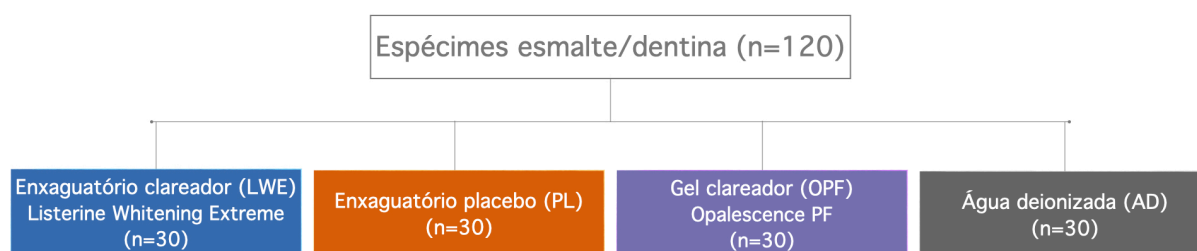
4.3 Parte 2 – Estudo *in vitro*: Efeito do enxaguatório clareador no potencial de desmineralização do esmalte e em lesões incipientes de cárie durante o desafio cariogênicos

4.3.1 Desenho do estudo

O presente estudo *in vitro* seguiu um modelo paralelo totalmente aleatorizado e sua estrutura foi baseada nas normas propostas pelo CRIS (*Checklist for Reporting In-vitro Studies*) *guideline* (Krithikadatta et al., 2014).

A unidade experimental do estudo foi espécimes de esmalte/dentina bovinos (n=120) e as variáveis repostas analisadas foram: intensidade de reflexão da superfície, flúor adsorvido na superfície do esmalte, perda mineral e flúor incorporado no esmalte. Os espécimes foram alocados aleatoriamente em quatro grupos (n=30), de acordo com o produto utilizado (Figura 7).

Figura 7 – Divisão dos grupos



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.2 Preparo dos espécimes

Dentes incisivos bovinos intactos e recém extraídos foram utilizados como unidade experimental. Após a limpeza para remoção completa de tecido periodontal

aderido à superfície, os dentes foram armazenados em solução de timol a 0,1% em pH 7 e refrigerados a 4°C durante o período de preparação dos espécimes. Após a limpeza, as coroas foram separadas da raiz na junção cimento-esmalte com disco diamantado de dupla face (Dremel, Racine, WI, Estados Unidos). A coroa foi então fixada na base metálica do equipamento de corte circular de amostras com a face vestibular voltada para a trefina. A trefina diamantada produziu um corte circular onde foram obtidos espécimes com 6 mm de diâmetro.

Após a obtenção dos espécimes, as espessuras foram padronizadas com o auxílio de um dispositivo metálico circular com altura definida em 3 mm por meio de um paquímetro digital (Starret, Itu, SP, Brasil). Primeiramente, os espécimes foram posicionados no dispositivo com a superfície do esmalte voltada para o interior do dispositivo, permitindo que a dentina fosse desgastada pela lixa de carbeto de silício (#800 de granulação – FEPA-P, Struers, Ballerup, Dinamarca) que estava fixada na politriz circular. Esta etapa permitiu a regularização da superfície da dentina, preparando o espécime para posterior polimento da superfície de esmalte. A velocidade de operação da politriz foi definida em 300 rpm e utilizada em todo processo sob constante irrigação.

Após esta etapa, os espécimes foram analisados criteriosamente em um estereomicroscópio (Carl Zeiss – Stemi 2000 – 20x) e aqueles que apresentaram trincas ou imperfeições foram descartados. Ao final desta etapa de triagem dos espécimes, aqueles que haviam sido selecionados foram embutidos em resina epóxica (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Hanau, Alemanha). Os espécimes embutidos foram então submetidos ao processo de acabamento e polimento com uma sequência de lixas abrasivas de óxido de alumínio (#1200, #2400, e #4000 de granulação – FEPA-P, Struers, Ballerup, Dinamarca) em uma máquina polidora automática sob constante refrigeração (Tegramin 25 Struers, Cleveland, Ohio, EUA). Entre as trocas de lixas, os espécimes eram submetidos ao banho ultrassônico com água destilada para remover resíduo de abrasivos da superfície do espécime. Durante o preparo dos espécimes, eles foram armazenados em uma solução mineral (1,5 mM CaCl_2 , 1 mM KH_2PO_4 , 50 mM NaCl , pH 7.0) (Zero et al., 1990) até o início do experimento. Posteriormente, os espécimes foram polidos, sob constante refrigeração, com uma pasta diamantada de 1 μm por 1 min e então foram novamente submetidos ao banho ultrassônico com água deionizada (Niemeyer et al., 2021).

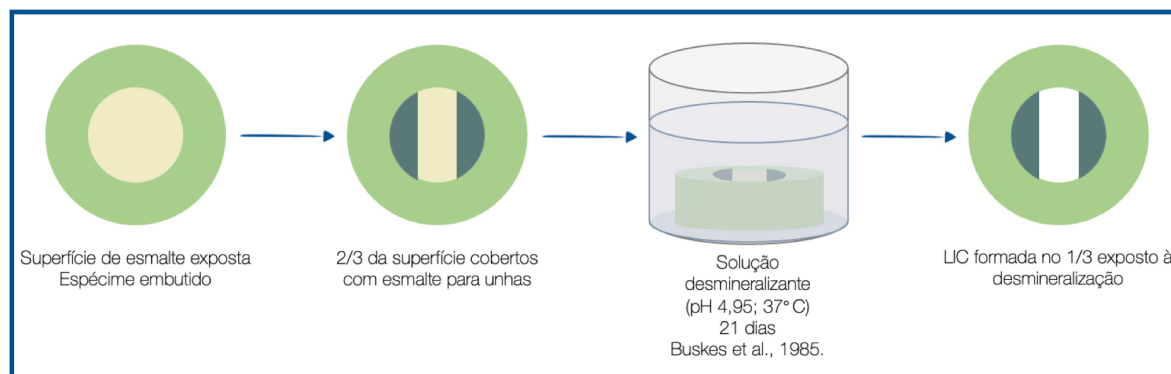
4.3.3 Randomização dos espécimes

Para a alocação dos espécimes nos grupos experimentais, eles foram randomizados de acordo com sua microdureza superficial (dureza Knoop) por meio de um microdurômetro automático (UHL VMHT Microhardness Tester, UHL technische Mikroskopie GmbH & Co. KG, Asslar, Alemanha). Os parâmetros definidos no equipamento para a realização do teste foram: carga de 50 g e 10 s de tempo de endentação. Foram realizadas 3 endentações na superfície do esmalte a uma distância de 100 μm entre cada uma delas. Após a conclusão das mensurações iniciais, os espécimes que apresentaram valores discrepantes em $\pm 10\%$ da média foram descartados e substituídos.

4.3.4 Formação das lesões incipientes de cárie

Dois terços da superfície do esmalte de cada espécime foram cobertos com um esmalte para unha ácido resistente, deixando um terço da superfície exposta à solução desmineralizante. Os espécimes foram então submetidos ao processo de desmineralização por 21 dias para criar as lesões incipientes de cárie (LIC). A solução desmineralizante era composta de 6 μM de metil hidroxí difosfonato, 3 mM de CaCl_2 , 3 mM de KH_2PO_4 , e 50 mM de CH_3COOH . O pH da solução foi ajustado para 4,95 e controlado diariamente. A solução foi mantida a 37°C durante todo o processo de formação das lesões (Buskes et al., 1985). As lesões incipientes de cárie (LIC) foram então formadas no terço da superfície exposta, enquanto os dois terços de superfície que estavam cobertos permaneceram sadios (sem desmineralização) (Figura 8).

Figura 8 – Representação esquemática do processo de formação das LIC nos espécimes



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.5 Ciclagem de pH e tratamentos

Após a formação das lesões incipientes de cárie em um terço da superfície dos espécimes, o esmalte para unha foi removido cuidadosamente de um dos dois terços cobertos da superfície. Assim, a superfície ficou dividida em três áreas: um terço permaneceu coberto pelo esmalte de unha e foi mantido como área sadia e controle até o fim do experimento (esmalte sadio controle – EC); um terço ainda se encontrava sadio, porém foi a área exposta aos tratamentos e ciclagem cariogênica (esmalte tratado – ET); e um terço que estava com a lesão incipiente de cárie e que também foi exposta aos tratamentos e ciclagem cariogênica (lesão incipiente de cárie tratada – LICT) (Figura 9).

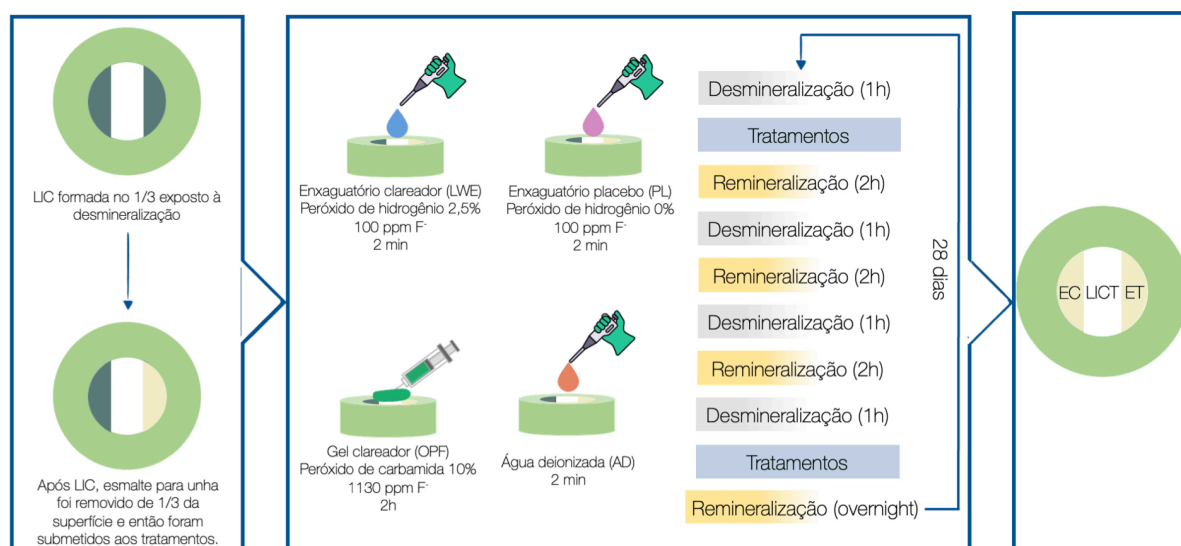
A ciclagem de pH foi realizada seguindo o mesmo protocolo previamente descrito na literatura: os espécimes foram submetidos a 4 períodos de desmineralização de 1 h seguidos por períodos de remineralização de 2 h durante o dia. Durante a noite, os espécimes foram mantidos na solução de remineralização. Essa ciclagem resultou em 4 h/dia de desmineralização e 18 h/dia de remineralização em um total de 28 dias (Jansen et al., 2021) (Figura 9). A solução de desmineralização utilizada nesta etapa foi a mesma utilizada na formação das lesões incipientes de cárie. Já a solução de remineralização era composta de: 1,5 mM de $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$,

0,9 M de KH_2PO_4 , e 20 mM de ácido hidroxietilpiperazina-N'2-etanossulfônico (HEPES) como tampão com pH 7 (37°C) (Buskes et al., 1985). A quantidade de cada solução foi suficiente para prevenir que as soluções se tornassem saturadas ou houvesse depleção de íons minerais ($0,7 \text{ ml}$ de solução/ mm^2 superfície de esmalte).

A aplicação das soluções experimentais (LWE, PL e AD) ocorreu após o primeiro e último período de desmineralização de cada dia. As soluções experimentais foram aplicadas nas áreas expostas da superfície do espécime ($120 \mu\text{l}$, 37°C, 2 min) com uma pipeta multidispensadora (Repeater® M4, Vaudaux-Eppendorf AG, Schönenbuch, Basel-Landschaft, Suíça). E o gel clareador foi aplicado sobre as superfícies expostas ($0,01 \text{ g}$, 37°C, 2h) após o primeiro período de desmineralização de cada dia.

Após os tempos de aplicação de cada produto, todos os espécimes foram lavados abundantemente com água deionizada. Adicionalmente, para o grupo OPF, o excesso de gel remanescente na superfície foi removido com o auxílio de uma ponta de pipeta inserida em uma cânula que estava conectada a uma bomba a vácuo, evitando assim a abrasão da superfície tratada.

Figura 9 – Esquema exemplificando os espécimes sendo submetidos aos tratamentos durante a ciclagem de pH



Legenda: EC= esmalte sadio controle; LIC=lesão incipiente de cárie tratada; ET= esmalte tratado.
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.6 Determinação da concentração de flúor e pH dos produtos testados

A determinação da concentração de flúor dos produtos foi realizada em duas distintas formas considerando os enxaguatórios e o gel clareador. Os enxaguatórios foram submetidos à análise sem nenhuma diluição ou preparo prévio. Já o gel clareador foi diluído na proporção de 1:20.

O conteúdo de 1,8 ml de cada solução (enxaguatórios ou gel diluído) foi adicionado a 0,2 ml de TISAB III, e a concentração de flúor nessa solução foi mensurada usando um eletrodo calibrado. A calibração do eletrodo foi realizada com 8 soluções padrão com concentração determinada (de 15,62 até 1000 ppm F⁻). Adicionalmente, foi verificada a quantidade de flúor liberada pelo gel clareador. Para isso, 0,01 g de gel foi colocado em um tubo plástico contendo 1 ml de água destilada. O frasco foi mantido por 2 h em uma incubadora com temperatura definida e constante em 37°C. Após este período, 1,8 ml da água foi coletada e misturada com 0,2 ml de TISAB III, e colocada para a análise de flúor.

O pH de cada produto utilizado no estudo também foi mensurado com um eletrodo de pH previamente calibrado com soluções padrão e as mensurações foram realizadas em triplicata. A média e desvio-padrão da concentração de flúor (ppm F⁻) e do pH de cada produto comercial estão expressos no quadro 2.

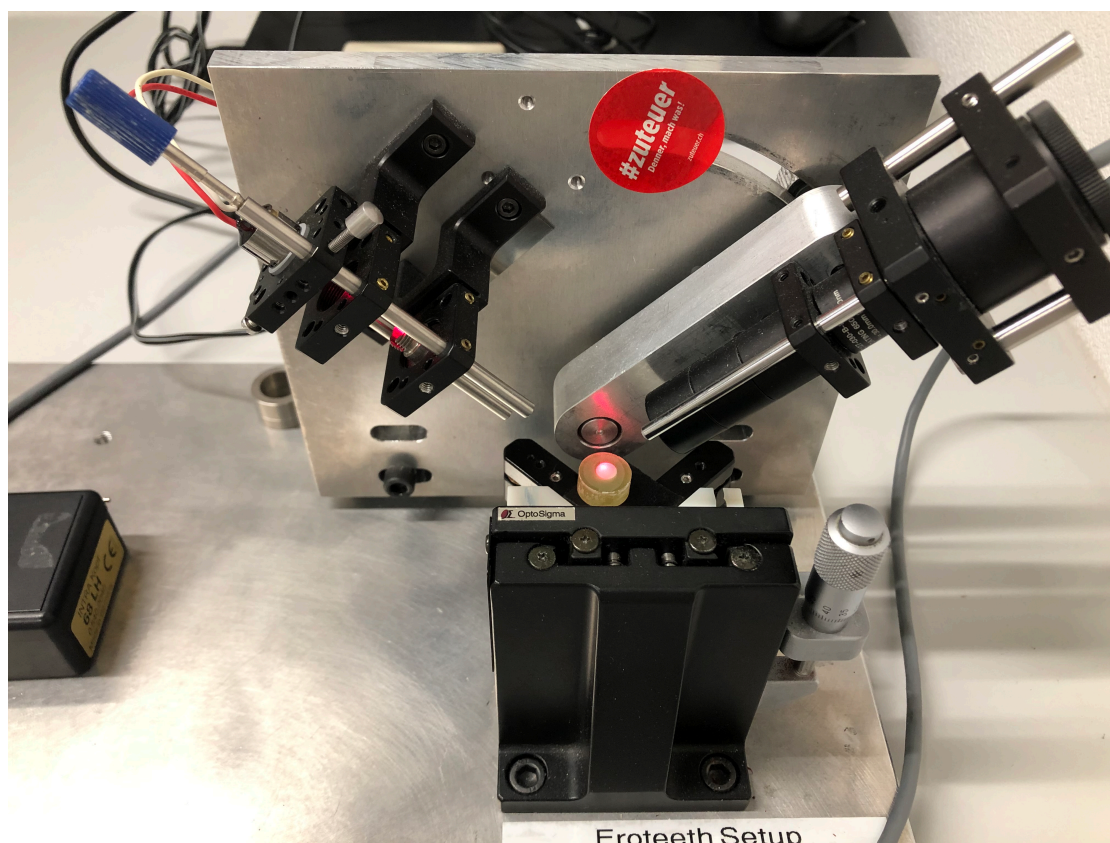
4.3.7 Análises de superfície

4.3.7.1 Análise da intensidade de reflexão de superfície

A intensidade de reflexão de superfície (*surface reflection intensity* – SRI) foi mensurada com um reflectômetro de bancada conectado ao computador que continha um software de leitura específico. O espécime foi colocado na plataforma em uma posição padronizada sob o feixe de laser (635 nm; oeMarket, Cherrybook, Australia). Com o objetivo de se registrar o valor mais alto de reflexão da luz, a plataforma era

movida para ajustar a superfície do espécime ao feixe do laser (Carvalho et al., 2021; Rakhmatullina et al., 2011; Sieber et al., 2019) para que pudesse ser acessado a rugosidade de superfície (Figura 10).

Figura 10 – Reflectômetro de bancada com o espécime em posição para a análise



Fonte: Elaborada pelo autor.

As mensurações foram realizadas no esmalte tratado (ET) em dois momentos: início e após a aplicação dos tratamentos durante a ciclagem de pH (C_{pH}). Para as lesões incipientes de cárie (LIC), as mensurações ocorreram em três momentos: início, após a formação das lesões (FLIC), e após a aplicação dos tratamentos durante a ciclagem de pH (LICT). Após a obtenção dos valores absolutos expressos em SRI, foi calculada a intensidade de reflexão de superfície relativa (*relative surface reflection intensity* – rSRI) tanto para ET, como para LICT:

$$rSRI_{ET} = \left(\frac{SRI_{CpH}}{SRI_{início}} \right) \times 100$$

$$rSRI_{LIC1} = \left(\frac{SRI_{FLIC}}{SRI_{início}} \right) \times 100$$

$$rSRI_{LIC2} = \left(\frac{SRI_{LICT}}{SRI_{início}} \right) \times 100$$

4.3.7.2 Análise do flúor adsorvido no esmalte

Para a análise da quantificação de flúor adsorvido no esmalte resultante da aplicação dos tratamentos durante a ciclagem cariogênica, espécimes adicionais foram utilizados (n=60). Os espécimes foram submetidos ao processo de formação das lesões incipientes de cárie, como descrito anteriormente, e depois das lesões terem sido criadas, os espécimes foram cortados ao meio de maneira que uma metade foi mantida como controle (flúor adsorvido sobre lesão incipiente de cárie controle – FA_{LICC}) e a outra metade foi submetida a aplicação dos tratamentos durante a ciclagem cariogênica como descrito anteriormente (flúor adsorvido lesão incipiente de cárie tratada – FA_{LICT}).

Todos os espécimes (as 120 metades) tiveram então suas áreas de superfícies mensuradas com o auxílio de um software (IM500, Leica Microsystem AG, Milão, Itália) que fazia a interface entre o computador e o microscópio (Carvalho et al., 2015), e foram então submetidos a análise de flúor posteriormente.

Todos os espécimes foram individualmente imersos na solução de hidróxido de potássio (KOH 1 M, 1,1 ml, 25°C, 110 rpm) por 24 h em uma câmara a vácuo à 7 kPa. Após este período, os espécimes foram removidos e a solução foi levada para ser analisada, como previamente descrito (Carvalho et al., 2015.). A análise de flúor foi realizada utilizando-se um eletrodo de íons seletivo (PerfectION™; Mettler-Toledo) conectado a um voltímetro (SevenMulti; Mettler-Toledo) previamente calibrado com soluções padrão de concentração conhecida (de 0,02 a 0,50 ppm F⁻) e que foram determinadas no estudo piloto. Então, após a calibração do eletrodo, 0,9 ml de KOH

foi neutralizado com a adição de 0,117 ml de HCl (7,7 mol/l). TISAB *low-level* foi adicionado na solução neutralizada numa proporção de 1:1. A concentração de flúor na solução de KOH neutralizada foi mensurada em duplicata, e o valor foi normalizado em relação a área da superfície do esmalte (em mg F/mm² de esmalte).

4.3.8 Análises de subsuperfície

4.3.8.1 Análise de perda mineral

Para a análise de perda mineral, os espécimes foram preparados para serem submetidos à microradiografia transversal. Assim, inicialmente, finos cortes de 300-400 µm de espessura foram obtidos de cada espécime e, subsequentemente, foram retificados e polidos até uma espessura de 100 µm (± 10 µm). A espessura e o paralelismo de cada corte foram verificados por meio de um micrometro digital.

Para obter as microradiografias, foi utilizada uma fonte de raios-X de cobre filtrado com níquel (PW 1730; Philips, Kassel, Alemanha), configurado em 20 kV, 20 mA, 10 s de tempo de exposição, e uma distância de 28 cm entre a fonte de radiação e o filme (Wierichs et al., 2020). Um filme de alta resolução foi utilizado e revelado de acordo com as recomendações do fabricante. Então, as microradiografias foram digitalizadas por um sistema de análise de imagem em um computador conectado a um microscópio (Leica DMRX; Alemanha). As imagens foram cortadas em três regiões distintas (esmalte sadio controle - ESC, esmalte tratado – ET, e lesão incipiente de cárie tratada – LICT) e analisadas com software específico (versão 5.25 by Joop de Vries, Groningen, Holanda). A perda mineral da área de esmalte tratada (ΔZ_{ET}) e da área da lesão incipiente de cárie tratada (ΔZ_{LICT}) após o ciclo cariogênico foi calculada pelo software descrito acima e os gráficos das medias dos perfis de perda mineral foram obtidos para cada grupo experimental com o software de cálculo TMR/WIM *Calculation Program*.

4.3.8.2 Análise do flúor incorporado ao esmalte

As mesmas amostras adicionais usadas para análise de flúor adsorvido ao esmalte também sofreram abrasão para quantificação de flúor incorporado na lesão incipiente de cárie (FI). As duas metades dos espécimes foram submetidas a duas abrasões em diferentes profundidades: até 75 μm (camada externa) e até 125 μm (camada interna). Para isso, os espécimes foram colocados em um aparelho de abrasão acoplado a um micrômetro (Altenburger et al., 2009.) e a superfície do esmalte voltada para uma tira de papel carbetto de silício (FEPA #500) que foi previamente lavada com ácido perclórico (0,0072 ml HClO_4 3%/mm² a 25 °C) por 8 h.

Cada tira foi pesada usando uma balança de precisão (Sartorius Research, Instrumenten-Gesellschaft AG, Zurique, Suíça) antes e após a abrasão. A diferença entre o peso das tiras antes e depois do procedimento de abrasão foi usada para calcular a quantidade precisa (peso) de pó de esmalte que havia sido desgastado de cada espécime. Cada tira de papel carbetto de silício foi usada uma vez, para a abrasão de cada profundidade.

Após a abrasão, o pó de esmalte foi colocado em recipientes individuais e a tira foi cortada em pequenos pedaços e também colocada no recipiente. Ácido clorídrico (1,1 ml de HCl 10 M) foi adicionado em cada recipiente (Carvalho et al., 2015) e eles foram mantidos sob agitação por 24 h a 25°C (110 rpm; Stuart Mini Orbital Shaker). O ácido foi então levado para análises de flúor. O HCl foi neutralizado com a adição de 0,1 ml de KOH (10 M). Então, tampão TISAB *low-level* foi adicionado à solução neutralizada (1:1). A análise de flúor foi realizada como descrito acima. As concentrações de flúor no HCl foram medidas em duplicata, e o valor foi normalizado para a quantidade (peso) de pó de esmalte desgastado (em $\mu\text{F/g}$ de esmalte) (Carvalho et al., 2015).

4.3.9 Delineamento estatístico

As hipóteses de nulidade formuladas foram:

H01: Não há diferença entre os produtos testados em relação ao potencial de desmineralização do esmalte.

H02: Não há diferença entre os produtos testados em relação à progressão da lesão incipiente de carie.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk e as variáveis testadas não apresentaram distribuição normal (intensidade relativa de reflexão da superfície, flúor adsorvido na superfície, perda mineral e flúor incorporado na subsuperfície). Dessa forma, testes não paramétricos foram aplicados para análise de dados.

As diferentes áreas da superfície/subsuperfície do esmalte foram analisadas separadamente: área do esmalte tratado (ET - submetida aos tratamentos durante ciclagem de pH: $rSRI_{ET}$, ΔZ_{ET}) e área de lesão incipiente de cárie ($rSRI_{LIC1}$, $rSRI_{LIC2}$, FA_{LICC} , FA_{LICT} , ΔZ_{LICT} , FI_{LICC} , FI_{LICT}). Kruskal-Wallis foi usado para comparar as diferenças entre os grupos com teste post-hoc de Dunn e correção de Bonferroni para todas as variáveis de cada área de esmalte separadamente. Dentro de cada grupo, os espécimes foram comprados após a formação da lesão incipiente de carie e após a ciclagem de pH (ou seja, entre $rSRI_{LIC2} - rSRI_{LIC1}$; $FA_{LICT} - FA_{LICC}$; e $FI_{LICT} - FI_{LICC}$) usando o teste de pares combinados de Wilcoxon, exceto para TMR. O nível de significância adotado nas análises foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados da Parte 1

5.1.1 Dados demográficos

Os quarenta e cinco participantes eram jovens e predominantemente do sexo feminino (82,22%). A idade média dos participantes foi de $21,84 \pm 4,68$ anos. As demais características dos participantes estão descritas na tabela 1.

Tabela 1 – Características clínicas de cada grupo de tratamento

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS		LWE	PL	OPF
Idade		$24,47 \pm 2,07^{\dagger}$	$22,20 \pm 6,28^{\dagger}$	$22,93 \pm 4,84^{\dagger}$
Sexo	Fem.	13	13	11
	Masc.	2	2	4
Cor inicial do dente 11	VC	A3 [†]	A3 [†]	A3 [†]
	VB	3M2 [†]	2,5M2 [†]	2,5M2 [†]
	L*	$80,23 \pm 3,50^{\dagger}$	$82,63 \pm 4,11^{\dagger}$	$81,07 \pm 4,11^{\dagger}$
	a*	$-1,33 \pm 0,82^{\dagger}$	$-1,57 \pm 0,63^{\dagger}$	$-1,38 \pm 0,84^{\dagger}$
	b*	$18,78 \pm 3,56^{\dagger}$	$19,05 \pm 3,78^{\dagger}$	$19,49 \pm 2,58^{\dagger}$

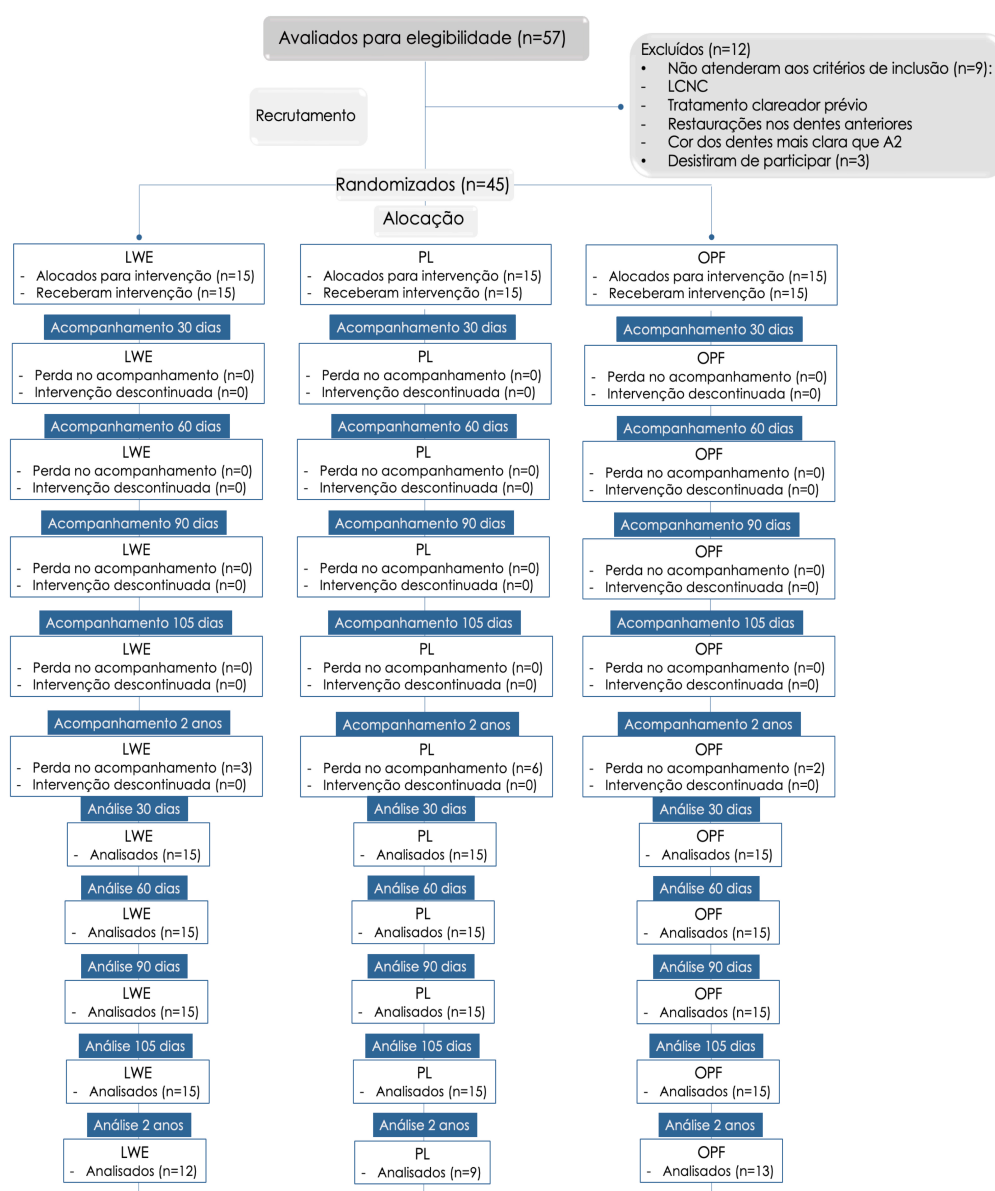
Legenda: Fem.= feminino; Masc.= masculino; VC= escala Vitapan Classical; VB= escala Vita Bleachedguide 3D-Master; L*= parâmetro de cor do sistema CIELAB referente à luminosidade; a*= parâmetro de cor do sistema CIELAB referente ao eixo colorimétrico vermelho-verde; b*= parâmetro de cor do sistema CIELAB referente ao eixo colorimétrico amarelo-azul; [†]= valor de mediana; [‡]= valor de média e desvio-padrão.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.2 Distribuição dos participantes nos grupos de tratamento

O fluxograma abaixo (Figura 9) mostra como os participantes foram distribuídos nos grupos de tratamento clareador, bem como os referidos tempos de acompanhamento e análise.

Figura 9 – Fluxograma do estudo de acordo com as normas do CONSORT



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.3 Alteração de cor dos dentes verificada pelas escalas visuais e pelo espectrofotômetro

O teste de Kruskal-Wallis mostrou diferenças significativas para os grupos de tratamento em cada tempo avaliado ($p < 0,001$). Os dados numéricos correspondentes à mudança de cor do dente (ΔUEC) durante o estudo (Vitapan Classical e Vita Bleachedguide 3D-MASTER) estão apresentados na Tabela 2. De acordo com o teste de Dunn, o grupo LWE apresentou alteração de cor significativamente maior em relação ao grupo PL em T60, e a cor foi mantida até o final do estudo. Os valores de ΔUEC para o grupo PL foram constantes em todos os tempos avaliados. O tratamento clareador caseiro convencional OPF apresentou maior alteração da cor dos dentes em comparação aos demais grupos até T30. Após este período, LWE e OPF apresentaram alteração de cor semelhantes. Após 2 anos do término do tratamento, houve manutenção da cor obtida com o tratamento clareador para ambos os grupos LWE e OPF.

Tabela 2 – Mediana [1º quartil; 3º quartil] dos valores de alteração de cor (ΔUEC) obtidos pelas escalas visuais nos tempos analisados em comparação com a cor inicial dos dentes

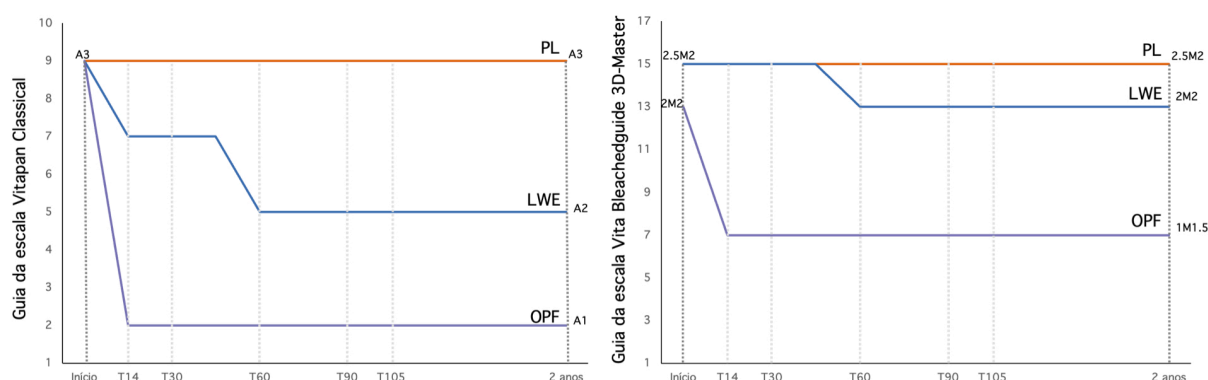
COR	TRAT.	T14	T30	T60	T90	T105	2 anos
ΔUEC_{VC}	LWE	0,0[0,0;0,0]Aa	0,0[1,0;0,0]Aa	4,0[3,0;4,0]Ab	3,0[3,0;4,0]Ab	3,0[3,0;4,0]Ab	3,0[3,0;4,0]Ab
	PL	0,0[0,0;0,0]Aa	0,0[0,0;0,0]Aa	0,0[0,0;0,0]Ba	0,0[0,0;0,0]Ba	0,0[0,0;0,0]Ba	0,0[0,0;0,0]Ba
	OPF	4,0[3,5;7,0]Ba	4,0[3,5;7,0]Ba	4,0[3,5;7,0]Aa	4,0[3,0;7,0]Aa	4,0[3,5;7,0]Aa	4,0[3,0;7,0]Aa
ΔUEC_{VB}	LWE	0,0[0,0;0,0]Aa	0,0[0,0;2,0]Aa	4,0[2,0;6,0]Ab	4,0[4,0;6,0]Ab	4,0[4,0;6,0]Ab	4,0[3,5;6,0]Ab
	PL	0,0[0,0;0,0]Aa	0,0[0,0;0,0]Aa	0,0[0,0;0,0]Ba	0,0[0,0;0,0]Ba	0,0[0,0;0,0]Ba	0,0[0,0;0,0]Ba
	OPF	8,0[7,0;10,0]Ba	8,0[7,0;10,0]Ba	8,0[7,0;10,0]Aa	8,0[7,0;9,0]Aa	8,0[7,0;9,0]Aa	8,0[6,8;9,0]Aa

Legenda: letras maiúsculas diferentes correspondem a diferença significativa entre os tratamentos no referido tempo analisado, de acordo com cada escala utilizada (Kruskal-Wallis, pos-hoc Dunn). Letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre os tempos considerando o mesmo grupo de tratamento, de acordo com a escala utilizada (Friedman, pos-hoc Wilcoxon matched pairs). VC= escala Vita Classical; VB= escala Vita Bleachedguide 3D-Master; TRAT.= tratamento.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A comparação dos valores numéricos de mediana da cor dos dentes entre os tratamentos nos diferentes tempos para ambas as escalas de cores são apresentadas na Figura 10. No geral, a cor inicial do dente 11 de acordo com a escala de cor Vitapan Classical foi A3. Após três meses de tratamento, enxaguatório clareador alterou a cor para A2, indicando uma mudança de três tonalidades na direção mais clara e o gel clareador alterou a cor para A1. Para a escala de cor Vita Bleachedguide 3D-Master, a cor variou de 2,5M2 para 2M2 para o enxaguatório clareador, enquanto o gel clareador reduziu a cor para 1M1.5, indicando uma mudança de duas e quatro tonalidades para a direção mais clara.

Figura 10 – Comportamento da alteração de cor de acordo com a cor da guia da escala correspondente aos períodos analisados



Fonte: Elaborado pelo autor.

Para análise espectrofotométrica, o teste de ANOVA de medidas repetidas mostrou diferenças significativas para tratamento clareador, tempo e fatores de interação, considerando a mudança de cor do dente durante o período de estudo ($p < 0,001$) para cada sistema de avaliação de cor utilizado.

O grupo LWE apresentou mudança de cor significativamente maior em relação ao grupo PL em T14. O grupo controle negativo PL apresentou valores de alteração de cor constantes em todos os tempos. OPF apresentou valores significativamente maiores de alteração de cor ao longo do estudo. Esse comportamento foi verificado para todos os sistemas de avaliação objetiva da cor

utilizados. Após 2 anos de acompanhamento, houve manutenção da cor obtida com o tratamento clareador tanto para LWE quanto para OPF (Tabela 3).

Tabela 3 – Média ($\pm$ desvio-padrão) da alteração de cor dos dentes em cada grupo de tratamento nos referidos tempos avaliados de acordo com o sistema de cor

COR	TRAT.	T14	T30	T60	T90	T105	2 anos
ΔE_{ab}	LWE	2,37 $\pm$ 1,58 Aa	2,36 $\pm$ 1,60 Aa	3,76 $\pm$ 1,74 Ab	3,79 $\pm$ 2,21 Ab	3,57 $\pm$ 1,66 Ab	3,63 $\pm$ 1,45 Ab
	PL	0,63 $\pm$ 0,39 Ba	0,84 $\pm$ 0,75 Ba	0,70 $\pm$ 1,05 Ba	0,48 $\pm$ 0,32 Ba	0,55 $\pm$ 0,33 Ba	0,35 $\pm$ 0,23 Ba
	OPF	6,63 $\pm$ 2,47 Ca	6,65 $\pm$ 2,29 Ca	6,55 $\pm$ 2,24 Ca	6,98 $\pm$ 2,05Ca	6,95 $\pm$ 2,11 Ca	6,87 $\pm$ 2,21 Ca
ΔE_{00}	LWE	1,52 $\pm$ 1,01 Aa	1,55 $\pm$ 1,04 Aa	2,37 $\pm$ 1,02 Ab	2,57 $\pm$ 1,48 Ab	2,43 $\pm$ 1,13Ab	2,17 $\pm$ 1,40 Ab
	PL	0,42 $\pm$ 0,25 Ba	0,55 $\pm$ 0,50 Ba	0,66 $\pm$ 0,79 Ba	0,31 $\pm$ 0,20 Ba	0,37 $\pm$ 0,24 Ba	-0,30 $\pm$ 0,52 Ba
	OPF	4,30 $\pm$ 1,62 Ca	4,29 $\pm$ 1,56] Ba	4,19 $\pm$ 1,50 Ca	4,47 $\pm$ 1,41 Ca	4,46 $\pm$ 1,45 Ca	4,28 $\pm$ 3,81 Ca
WI _D	LWE	1,47 $\pm$ 1,69 Aa	2,23 $\pm$ 2,28 Aa	3,11 $\pm$ 2,35 Ab	2,82 $\pm$ 2,23 Aab	3,18 $\pm$ 2,26 Ab	2,28 $\pm$ 1,59 Aab
	PL	-0,23 $\pm$ 0,65 Ba	-0,35 $\pm$ 0,50 Ba	0,30 $\pm$ 1,15 Ba	-0,31 $\pm$ 0,30 Ba	-0,31 $\pm$ 0,45 Ba	-0,30 $\pm$ 0,52 Ba
	OPF	8,85 $\pm$ 3,91 Ca	8,30 $\pm$ 3,51 Ca	8,32 $\pm$ 3,78 Ca	8,41 $\pm$ 3,55 Ca	8,40 $\pm$ 3,61 Ca	7,81 $\pm$ 3,93 Ca

Legenda: letras maiúsculas diferentes correspondem a diferença significativa entre os tratamentos no referido tempo analisado, de acordo com o sistema de avaliação de cor utilizado (diferença nas colunas). Letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre os tempos, de acordo com o sistema de avaliação de cor utilizado (diferença nas linhas). TRAT.= tratamento.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para os parâmetros CIELAB, houve aumento progressivo dos valores de ΔL em LWE. Ao final do tratamento (T90), esse valor foi semelhante ao OPF. Para Δa , os valores foram semelhantes em todos os tempos avaliados e as maiores alterações foram detectadas no grupo OPF. Foram detectados valores mais altos de Δb para OPF, mas não para LWE, que foi semelhante aos valores de PL (Tabela 4).

Tabela 4 – Média ($\pm$ desvio-padrão) da diferença nos parâmetros L*, a* e b* em cada grupo de tratamento nos referidos tempos avaliados

PARÂMETRO	TRAT.	T14	T30	T60	T90	T105	2 anos
ΔL	LWE	1,12 $\pm$ 2,13Aa	1,40 $\pm$ 1,83Aa	2,45 $\pm$ 2,32Ab	3,19 $\pm$ 2,57Ac	2,92 $\pm$ 2,18Abc	2,71 $\pm$ 1,98Abc
	PL	-0,21 $\pm$ 0,49Ba	-0,25 $\pm$ 0,96Ba	0,19 $\pm$ 1,12Ba	-0,20 $\pm$ 0,37Ba	-0,29 $\pm$ 0,48Ba	-0,20 $\pm$ 0,27Ba
	OPF	4,56 $\pm$ 2,22Ca	3,72 $\pm$ 3,49Ca	3,33 $\pm$ 3,14Ca	3,14 $\pm$ 3,97Aa	3,15 $\pm$ 3,98Aa	3,50 $\pm$ 2,28Aa
Δa	LWE	-0,06 $\pm$ 0,30Aa	-0,21 $\pm$ 0,37Ab	-0,20 $\pm$ 0,33Ab	-0,25 $\pm$ 0,46Ab	-0,27 $\pm$ 0,44Ab	-0,32 $\pm$ 0,04Ac
	PL	-0,02 $\pm$ 0,22Aa	-0,03 $\pm$ 0,16Ba	-0,06 $\pm$ 0,27Ba	-0,01 $\pm$ 0,12Ba	-0,01 $\pm$ 0,12Ba	-0,01 $\pm$ 0,11Ba
	OPF	-0,69 $\pm$ 0,61Ba	-0,66 $\pm$ 0,59Ca	-0,65 $\pm$ 0,67Ca	-0,65 $\pm$ 0,59Ca	-0,62 $\pm$ 0,64Ca	-0,62 $\pm$ 0,52Ca
Δb	LWE	-0,53 $\pm$ 1,07Aab	-0,89 $\pm$ 1,42Aab	-1,07 $\pm$ 1,65Ab	-0,43 $\pm$ 1,50Aa	-0,61 $\pm$ 1,35Aab	-0,54 $\pm$ 0,60Aab
	PL	0,12 $\pm$ 0,45Ba	0,27 $\pm$ 0,48Ba	0,02 $\pm$ 0,53Ba	0,19 $\pm$ 0,34Ba	0,17 $\pm$ 0,38Ba	0,18 $\pm$ 0,35Ba
	OPF	-4,29 $\pm$ 2,22Ca	-4,26 $\pm$ 2,10Ca	-4,69 $\pm$ 2,20Ca	-4,86 $\pm$ 2,03Ca	-4,79 $\pm$ 2,06Ca	-4,85 $\pm$ 2,22Ca

Legenda: letras maiúsculas diferentes correspondem a diferença significativa entre os tratamentos no referido tempo analisado, de acordo com o parâmetro (diferença nas colunas). Letras minúsculas diferentes mostram diferença significativa entre os tempos, de acordo com o parâmetro (diferença nas linhas). TRAT.= tratamento.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.4 Sensibilidade dental

O risco absoluto (número de participantes de um grupo que relatou sensibilidade em relação ao número total de participantes desse grupo) foi calculado com base na proporção (%) de participantes que relataram sensibilidade em qualquer momento do estudo (Tabela 5). Os resultados do teste exato de Fisher comparando os tratamentos clareadores mostraram diferença significativa apenas para a comparação entre OPF e PL ($p=0,014$). A comparação entre LWE x OPF e LWE x PL não apresentou diferenças significativas ($p= 0,462$ e $0,167$, respectivamente).

Tabela 5 – Presença ou ausência de sensibilidade relatada pelos participantes em algum momento do período total do estudo

TRATAMENTO	PRESENÇA		AUSÊNCIA		
	N	%	N	%	
LWE	5	33,33	10	66,67	AB
PL	1	6,67	14	93,33	A
OPF	8	53,37	7	46,63	B

Letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos (diferenças nas colunas).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em relação à intensidade (grau de dor relatado pelo participante), foi detectada diferença significativa entre os tratamentos ($p=0,004$) pelo teste de Kruskal-Wallis. A intensidade da sensibilidade observada nos grupos clareados foi muito baixa considerando uma escala de 0-10 (LWE=0,17 e OPF=0,25), mas significativamente maior que o placebo (PL=0,01), segundo teste de Dunn ($p=0,004$).

5.1.5 Condição gengival

Os participantes não apresentaram nenhum sinal de inflamação gengival durante todo o período de intervenção. Assim, o tecido gengival foi classificado como G0, de acordo com o índice de Løe, em todos os tempos avaliados.

5.1.6 Conteúdo mineral do esmalte

Em relação a concentração de cálcio, não houve diferença significativa para os fatores tratamento ($p=0,817$) ou interação ($p=0,051$). Diferença só foi detectada para o fator tempo ($p=0,009$). Após o término dos tratamentos, (T2), a concentração de cálcio diminuiu significativamente em comparação aos valores de concentração iniciais (T1). Contudo, após 1 semana do término dos tratamentos, os valores de

concentração de cálcio foram intermediários (Tabela 6). Já para a comparação dos valores de concentração de fósforo, não houve diferença significativa para os fatores tratamento ($p=0,293$), tempo ($p=0,160$) e interação ($p=0,367$).

Tabela 6 - Média ($\pm$ desvio-padrão) da concentração de cálcio (mg/ml) nos referidos tempos analisados

T1	T2	T3
0,179 $\pm$ 0,042 A	0,167 $\pm$ 0,030 B	0,175 $\pm$ 0,039 AB

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1.7 Satisfação do paciente

Os participantes responderam duas series de perguntas em dois momentos da pesquisa: a primeira serie de perguntas foi aplicada após as intervenções e teve como objetivo avaliar a satisfação dos participantes frente aos tratamentos propostos, bem como conhecer os desafios experienciados pelos participantes durante o tratamento. A segunda serie de perguntas foi aplicada após dois anos de acompanhamento e teve como objetivo conhecer os hábitos alimentares dos participantes bem como a satisfação deles em relação a longevidade dos tratamentos. As respostas foram expressas em quantidade de participantes para cada possível resposta e a respectiva porcentagem. Os dados estão expressos nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7 – Frequência das respostas dos participantes de cada grupo

QUESTÕES	LWE		PL		OPF	
	SIM (%)	NÃO (%)	SIM (%)	NÃO (%)	SIM (%)	NÃO (%)
1. Você está satisfeito com a alteração de cor dos dentes?	10 (66,67)	5 (33,33)	5 (33,33)	10 (66,67)	15 (100)	-
2.1. Durante o tratamento, você sentiu gosto ruim na boca?	2 (13,33)	13 (86,67)	1 (6,67)	14 (93,33)	1 (6,67)	14 (93,33)
2.2. Você notou alteração no paladar?	1 (6,67)	14 (93,33)	-	15 (100)	-	15 (100)
3.1. Você teve a sensação de queimação na gengiva?	4 (26,66)	11 (73,33)	1 (6,67)	14 (93,33)	2 (13,33)	13 (86,67)
3.2. Você sentiu sensação de queimação no estomago?	-	15 (100)	-	15 (100)	-	15 (100)
3.3. Você sentiu sensação de queimação na garganta?	1 (6,67)	14 (93,33)	-	15 (100)	-	15 (100)
3.4. Você sentiu sua boca mais seca?	3 (20)	12 (80)	2 (13,33)	13 (86,67)	-	15 (100)
4. Você teve problemas em beber ou comer alimentos quentes, gelados, ácidos ou doces?	-	15 (100)	-	15 (100)	1 (6,67)	14 (93,33)

Tabela 8– Frequência das respostas dos participantes de cada grupo após dois anos de acompanhamento

(continua)

PARTE A										
TRATAMENTO	BEBIDAS/ALIMENTOS	1x/dia	2 ou 3x/dia	4x ou mais/dia	1x/sem	2x ou mais/sem.	1x/mes	2x ou mais/mes	Raramente	Nunca
LWE	Café	2	4	3	-	-	-	-	2	1
	Vinho	-	-	-	-	-	5	1	3	3
	Coca-cola	-	-	-	7	1	-	1	3	3
	Suco de uva	-	-	-	2	-	1	1	5	3
	Chá	4	-	-	2	-	1	-	2	3
	Acaí	-	-	-	-	-	2	1	5	4
	Mirtilo	-	-	-	-	-	-	-	3	9
	Amora	-	-	-	-	-	2	-	6	4
	Beterraba	-	-	-	5	-	-	-	4	3
	Molho Shoyu	-	-	-	3	3	1	-	3	2
	Molho de Tomate	-	-	-	9	-	2	-	-	1
	Mostarda	-	-	-	2	-	1	-	6	3
	Ketchup	-	-	-	2	-	2	-	5	3
PL	Café	5	3	-	-	-	-	-	1	-
	Vinho	-	-	-	1	-	2	-	5	1
	Coca-cola	-	-	-	6	-	2	-	-	1
	Suco de uva	-	-	-	-	-	5	-	2	2
	Chá	1	-	-	4	1	-	-	1	2
	Acaí	-	-	-	4	-	1	-	3	1
	Mirtilo	-	-	-	-	-	-	-	3	6
	Amora	-	-	-	-	-	-	-	-	9
	Beterraba	-	-	-	3	-	-	-	4	2
	Molho Shoyu	-	-	-	4	1	-	-	3	1
	Molho de Tomate	-	-	-	2	4	2	-	1	-
	Mostarda	-	-	-	2	1	-	-	5	1
	Ketchup	-	-	-	5	1	-	-	2	1
OPF	Café	-	2	5	-	2	-	-	-	4
	Vinho	-	-	-	-	3	5	-	1	4
	Coca-cola	-	-	-	8	2	-	-	2	1
	Suco de uva	-	-	-	-	-	-	-	5	7
	Chá	1	1	-	-	5	-	-	2	4
	Acaí	-	-	-	-	2	3	-	6	2
	Mirtilo	-	-	-	-	-	-	-	6	7
	Amora	-	-	-	-	-	-	-	5	8
	Beterraba	-	-	-	3	5	-	-	2	3
	Molho Shoyu	1	-	-	-	3	4	-	1	4
	Molho de Tomate	-	-	-	2	2	7	-	-	2
	Mostarda	-	-	-	1	2	1	-	7	2
	Ketchup	-	-	-	1	2	6	-	2	2

(conclusão)

PARTE B						
QUESTÕES	LWE		PL		OPF	
	SIM (%)	NÃO (%)	SIM (%)	NÃO (%)	SIM (%)	NÃO (%)
1. Você indicaria o tratamento clareador que você realizou para um amigo ou familiar?	5 (41,67)	7 (58,33)	2 (22,22)	7 (77,78)	11 (84,62)	2 (15,38)
2. Você realizaria o tratamento novamente?	6 (50)	6 (50)	1 (11,11)	8 (88,89)	13 (100)	-
3. Você está satisfeito com a cor dos seus dentes?	7 (58,33)	5 (41,67)	2 (22,22)	7 (77,78)	9 (69,23)	4 (30,77)
4. Você percebeu se houve amarelamento dos seus dentes?	6 (50)	6 (50)	7 (77,78)-	2 (22,22)	6 (46,15)	7 (53,85)
5. Grau de amarelamento						
0	6 (50)		2 (22,22)		7 (53,85)	
1	-		-		-	
2	2 (16,67)		-		-	
3	1 (8,33)		2 (22,22)		1 (7,69)	
4	1 (8,33)		3 (33,34)		2 (15,38)	
5	2 (16,67)		2 (22,22)		2 (15,38)	
6	-		-		1 (7,69)	
7	-		-		-	
8	-		-		-	
9	-		-		-	
10	-		-		-	

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 Resultados da Parte 2

5.2.1 Microdureza superficial

Os espécimes foram randomizados para serem alocados nos grupos experimentais por meio dos valores de microdureza superficial. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade, Shapiro-Wilk, e apresentaram normalidade em sua distribuição. O teste ANOVA um fator foi realizado para se certificar de que não haveria diferença na microdureza entre os grupos (Tabela 9).

Tabela 9 – Resultado do teste ANOVA um fator comparando a microdureza superficial dos espécimes após a alocação nos grupos experimentais

	SS	GRAU DE LIBERDADE	MS	F	p
Intercept	12549429	1	12549429	1953,308	0,000001
Grupo experimental	3348	3	1116	0,174	0,913987
Error	745266	116	6425		

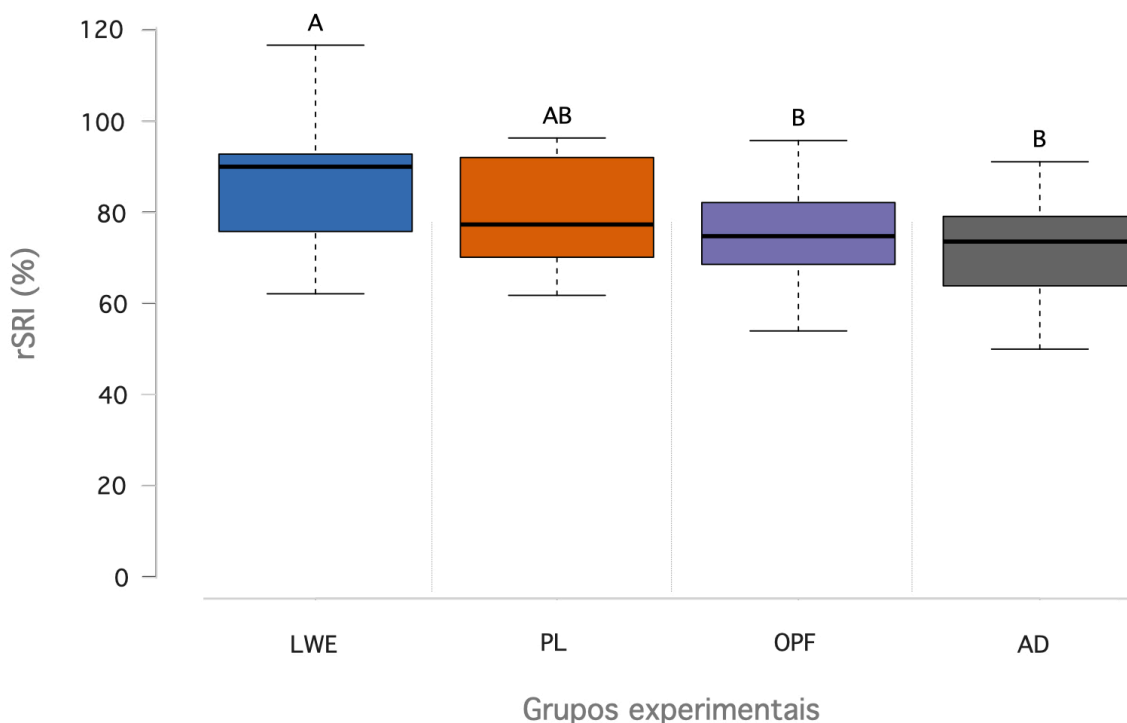
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.2 Análises da área de esmalte tratado (ET)

5.2.2.1 Intensidade de reflexão de superfície

Diferenças significantes nos valores relativos da intensidade de reflexão de superfície (rSRI) foram detectadas entre os grupos experimentais. Maiores valores de rSRI foram observados para o enxaguatório clareador (LWE) ($89,99 \pm 6,94$), enquanto o enxaguatório placebo (PL) exibiu valores intermediários ($77,31 \pm 10,25$). Diferentemente, o gel clareador (OPF) ($74,75 \pm 6,25$) e o grupo controle negativo (água deionizada) ($73,56 \pm 8,78$) apresentaram menores valores de rSRI (Figura 11).

Figura 11 – Mediana [1º quartil, 3º quartil] dos valores relativos de intensidade de reflexão de superfície (rSRI) do esmalte tratado



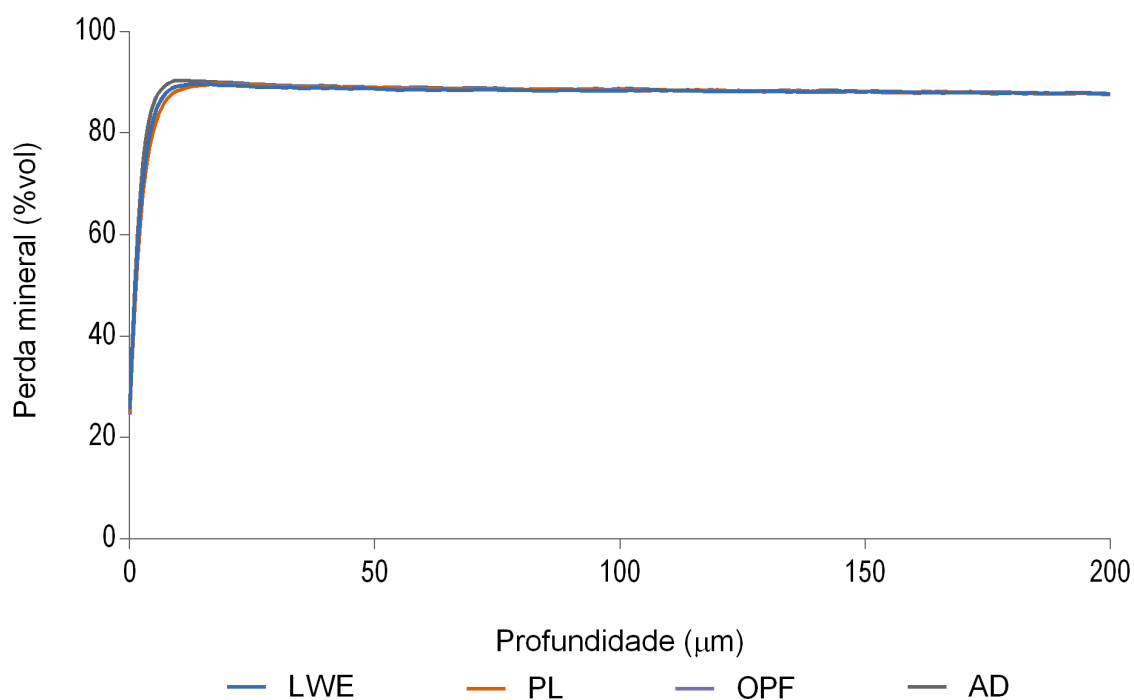
Legenda: Cores diferentes representam os diferentes grupos experimentais (LWE: enxaguatório clareador; PL: enxaguatório placebo; OPF: gel clareador; AD: água deionizada). Letras diferentes mostram diferença significativa entre os grupos experimentais.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.2.2 Perda mineral

Para a análise de perda mineral, não foi detectada diferença significativa entre os grupos experimentais ($p > 0,05$), bem como não houve sinal de perda mineral (Figura 12). Na tabela 10 estão expressos os valores de perda mineral de cada grupo experimental.

Figura 12 – Média do perfil de perda mineral para o esmalte tratado para cada grupo experimental



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 10 – Mediana [1º quartil; 3º quartil] da perda mineral da área de esmalte tratado (ΔZ_{ET}) após a ciclagem de pH de acordo com os grupos experimentais

GRUPO EXPERIMENTAL	N	ΔZ_{ET}	
Enxaguatório clareador (LWE)	29	-162,00 [-354; 298]	A
Enxaguatório placebo (PL)	30	-185,00 [-419; 206]	A
Gel clareador (OPF)	29	-176,00 [-364; 235]	A
Água deionizada (AD)	25	-188,00 [-433; -76]	A

Letras iguais significam que não houve diferença significativa entre os grupos experimentais.

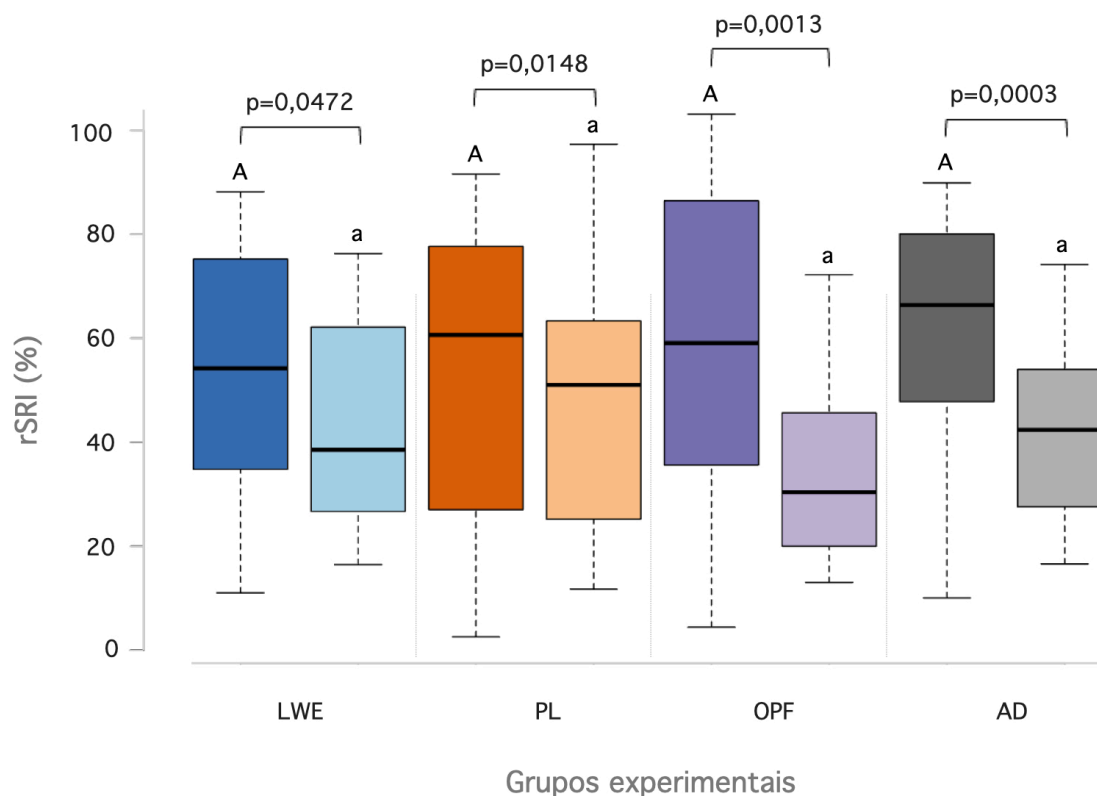
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.3 Análises da área de lesão incipiente de carie tratada (LICT)

5.2.3.1 Intensidade de reflexão de superfície

Após a formação da lesão incipiente de carie, todos os grupos experimentais exibiram valores similares de rSRI ($54,22 \pm 20,24$ para LWE; $60,63 \pm 17,76$ para PL; $59,09 \pm 25,43$ para OPF; e $66,39 \pm 17,90$ para AD) ($p > 0,05$) (Figura 13), e então, os espécimes foram submetidos aos tratamentos durante a ciclagem cariogênica. Após a ciclagem, não houve diferença significativa ($p > 0,050$) entre os grupos experimentais ($38,54 \pm 19,02$ para LWE; $51,01 \pm 20,92$ para PL; $30,39 \pm 10,91$ para OPF; e $42,38 \pm 12,45$ para AD) (Figura 13). Contudo, uma diminuição significativa foi verificada entre os valores de rSRI após a ciclagem cariogênica para todos os grupos experimentais ($p < 0,05$) (Figura 13). A diminuição dos valores de rSRI foi em 15,68% para LWE; 9,62% para PL; 28,70% para OPF; e 24,01% para AD.

Figura 13 – Mediana [1º quartil, 3º quartil] dos valores relativos de intensidade de reflexão de superfície (rSRI) da lesão incipiente de carie

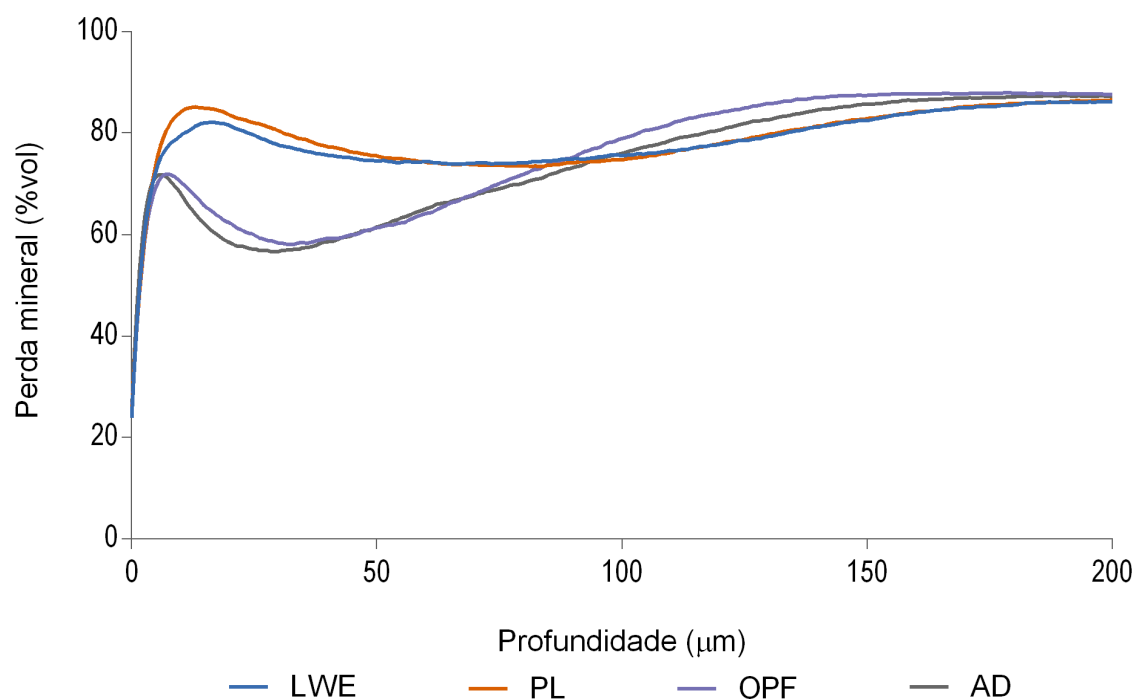


Legenda: Cores diferentes representam os diferentes grupos experimentais (LWE: enxaguatório clareador; PL: enxaguatório placebo; OPF: gel clareador; AD: água deionizada). As cores escuras representam os grupos após a formação da lesão incipiente de carie (LIC). As cores mais claras representam os grupos após a ciclagem de pH. Letras maiúsculas comparam os grupos após a formação da LIC e as letras minúsculas comparam os grupos após a ciclagem de pH. Os valores de p mostram diferença significativa entre os dois tempos analisados para cada grupo.
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.3.2 Perda mineral

Os perfis da média de distribuição mineral das lesões após a ciclagem cariogênica, de acordo com a profundidade da lesão, estão na figura 14, e os valores totais de perda mineral (ΔZ_{LIC}) estão descritos na Tabela 10. Diferenças significantes entre os grupos experimentais foram detectadas ($p < 0,05$), com maior perda mineral detectada no grupo controle negativo, e a menor perda mineral foi encontrada no grupo do enxaguatório placebo (Tabela 11).

Figura 14 – Média do perfil de perda mineral para o esmalte tratado para cada grupo experimental



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 11 – Mediana [1º quartil; 3º quartil] dos valores de perda mineral para a área de lesão de incipiente de carie tratada ($\Delta Z_{\text{LIC}}T$) após a ciclagem de pH de acordo com os grupos experimentais

GRUPO EXPERIMENTAL	N	$\Delta Z_{\text{LIC}}T$	
Enxaguatório clareador (LWE)	29	1563,00 [339; 3797]	AB
Enxaguatório placebo (PL)	30	1476,50 [583; 3612]	A
Gel clareador (OPF)	29	1935,00 [112; 5068]	AB
Água deionizada (AD)	25	2746,00 [511; 5092]	B

Letras diferentes mostram diferença significativa entre os grupos experimentais.

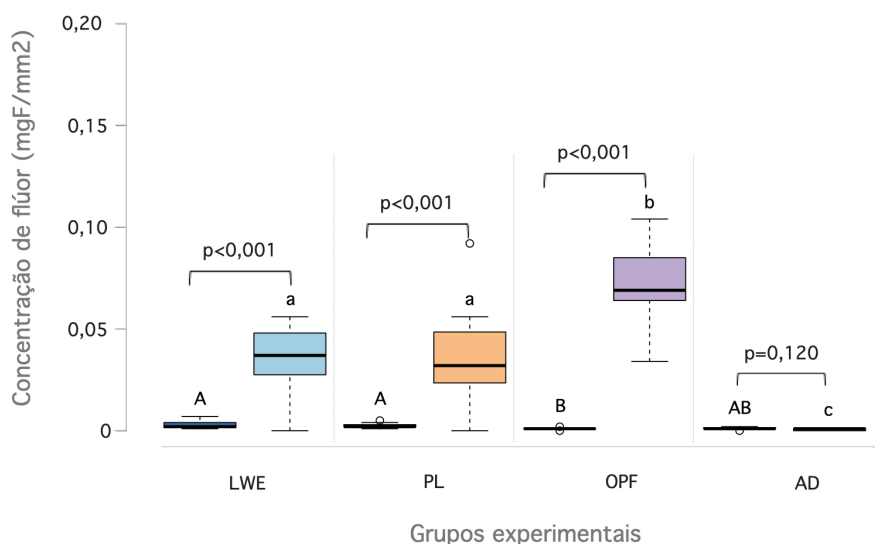
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.4 Análises adicionais

5.2.4.1 Flúor adsorvido em esmalte

A concentração de flúor detectada na solução de KOH dos espécimes que foram mantidos como controle foi extremamente baixa (próximo ao valor limite de detecção do eletrodo). Por outro lado, valores significativamente maiores de concentração de flúor foram detectados em todos os grupos após a ciclagem cariogênica, exceto para o controle negativo (Figura 15). A maior concentração de flúor foi detectada quando os espécimes foram tratados com o gel clareador (OPF). Os enxaguatórios apresentaram valores intermediários, sem diferença significativa entre os eles.

Figura 15 - Mediana [1º quartil; 3º quartil] dos valores de concentração do flúor adsorvido no esmalte



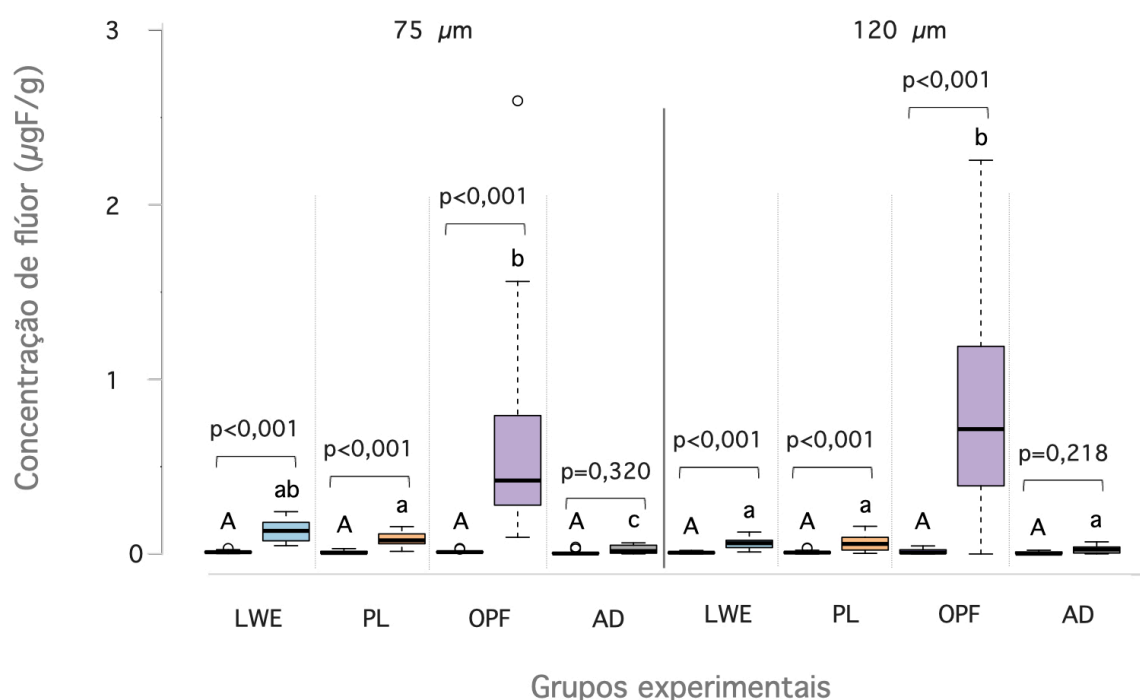
Legenda: Cores diferentes representam os diferentes grupos experimentais (LWE: enxaguatório clareador; PL: enxaguatório placebo; OPF: gel clareador; AD: água deionizada). As cores escuras representam a metade dos espécimes com lesão incipiente de carie e que foram mantidos como controle. As cores mais claras representam a metade dos espécimes com lesão incipiente de carie após a ciclagem de pH. Letras maiúsculas comparam as metades controle e as letras minúsculas as metades tratadas. Os valores de p mostram diferença significativa entre as duas metades para cada grupo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.4.2 Flúor incorporado ao esmalte

A concentração de flúor dentro da lesão de cárie foi mensurada em duas diferentes profundidades. Para a profundidade de 75 μm , concentração de flúor significativamente maior foi detectada para o gel clareador, enquanto os grupos tratados com enxaguatórios exibiram mínima concentração de flúor na lesão. Não foi detectado flúor no grupo controle negativo. Para a profundidade de 120 μm , somente o grupo do gel clareador exibiu concentração de flúor detectável, enquanto os outros grupos experimentais não exibiram concentração mensurável de flúor (Figura 16).

Figura 16 – Mediana [1º quartil; 3º quartil] dos valores de concentração do flúor incorporado ao esmalte



Legenda: Cores diferentes representam os diferentes grupos experimentais (LWL: enxaguatório clareador; PL: enxaguatório placebo; OPF: gel clareador; AD: água deionizada). As cores escuras representam a metade dos espécimes com lesão incipiente de cárie e que foram mantidos como controle (esquerda). As cores mais claras representam a metade dos espécimes com lesão incipiente de cárie após a ciclagem de pH (direita). Letras maiúsculas comparam as metades controle e as letras minúsculas as metades tratadas. Os valores de p mostram diferença significativa entre as duas metades para cada grupo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6 DISCUSSÃO

6.1 Estudo clínico randomizado

A eficácia clareadora foi avaliada com diferentes sistemas, tanto em relação à metodologia utilizada para a tomada da cor, quanto para a obtenção dos resultados. As escalas de cor como Vitapan Classical e Vita Bleachedguide 3D-Master são amplamente utilizadas nos estudos que avaliam os tratamentos clareadores. A escala Vitapan Classical é amplamente empregada por ser mais conhecida entre os profissionais. Já escala Vita Bleachedguide 3D-Master foi desenvolvida para permitir uma avaliação mais precisa de dentes clareados. Ela apresenta uma maior gama de cores, com distribuição mais homogênea em relação à luminosidade, em comparação com a escala Vitapan Classical (Paravina et al., 2007).

A avaliação com escalas de cor caracteriza uma metodologia subjetiva totalmente dependente de um observador treinado e calibrado. Contudo, como forma de se certificar a análise da cor e permitir a verificação dos parâmetros relacionados à cor, o uso do espectrofotômetro clínico é recomendado. Com este equipamento, é possível quantificar a cor por meio dos parâmetros L^* , a^* e b^* do sistema CIELAB. Este sistema utiliza a distância Euclidiana para mensurar o intervalo entre os valores dentro do espaço de cor CIELAB, considerando que esse espaço de cor é uniforme e todos os parâmetros exercem a mesma importância (Pecho et al., 2016). Contudo, alguns estudos verificaram que há uma discrepância na interpretação da verificação da cor quando se considera que todos os parâmetros (L^* , a^* e b^*) apresentam a mesma importância. Por esta razão, com o objetivo de se corrigir essa limitação e melhorar a percepção da cor, foi criada a fórmula CIEDE2000 que incorporou fatores de correção (Pecho et al., 2016).

Embora tanto o CIELAB como o CIEDE2000 sejam extensamente utilizados para a mensuração da cor na Odontologia, sugere-se que a eficácia clareadora seja melhor representada pelo índice de branqueamento dos dentes (Pérez et al., 2019). Existem vários índices de branqueamento, no entanto, o Índice de Branqueamento para Odontologia (Whiteness Index for Dentistry - WI_D) resulta de uma fórmula de fácil

utilização, baseada no sistema CIELAB (Pérez et al., 2016). Este índice foi adotado no presente estudo, pois mostrou uma melhor correlação com a percepção visual em comparação aos outros índices (Pérez et al., 2019).

Considerando a alteração de cor dos dentes obtida no presente estudo, a primeira hipótese de nulidade pode ser rejeitada, uma vez que os tratamentos geraram diferentes resultados para a alteração de cor dos dentes. O enxaguatório clareador promoveu alteração de cor significativa após 14 dias de tratamento. Considerando tanto o sistema CIELAB como o CIEDE2000, a alteração de cor foi maior que o limite de perceptibilidade para ambos os sistemas (Paravina et al., 2019). Contudo, considerando as escalas de cor, só foi possível detectar alteração de cor após 60 dias de tratamento. A alteração de cor obtida caracterizando o clareamento do substrato dental foi confirmado tanto pelo índice de clareamento como pelos valores de variação nas coordenadas L^* (aumento da luminosidade) e b^* (diminuição do amarelamento) (Luo et al., 2007). No entanto, a alteração dos valores de L^* foram maiores do que os valores de b^* no grupo LWE. Isso sugere que o enxaguatório clareador teve maior ação alterando a luminosidade dos dentes do que promovendo o desamarelamento do substrato dental.

Este comportamento observado em relação a alteração de cor dos dentes resultante do efeito do enxaguatório pode ser atribuído ao período de aplicação diária do produto que foi muito menor em comparação ao tempo de aplicação do gel clareador (OPF). Enquanto o enxaguatório clareador era utilizado por 30 s, 2×/dia, o gel clareador foi aplicado por 2h diariamente. Outros estudos também verificaram este comportamento do enxaguatório clareador e atribuíram este efeito ao pH mais ácido do produto (Lima et al., 2012), bem como menor tempo de aplicação (Torres et al., 2013; Oliveira et al., 2017). O grupo que utilizou o enxaguatório placebo não exibiu alteração de cor expressiva, com valores próximos a zero e este comportamento se manteve durante os referidos tempos avaliados. Já o grupo que utilizou o gel clareador apresentou os maiores valores de alteração de cor após o término do tratamento (14 dias) e este resultado prosseguiu durante todos os períodos de análise.

Em relação aos efeitos adversos, embora os grupos que foram tratados com produtos clareadores, enxaguatório (LWE) e gel (OPF), apresentaram sensibilidade dental, o grau de sensibilidade foi muito baixo, menor do que 1 considerando uma escala de 0 a 10. A concentração do princípio ativo de ambos os grupos foi

semelhante, uma vez que o peróxido de carbamida a 10% se decompõe em ~3% de peróxido de hidrogênio (Mailart et al., 2020). Muito embora eles tenham sido aplicados em tempos distintos, o tratamento com enxaguatório era realizado por 30 s 2×/dia e o tratamento com gel clareador por 2 h 1×/dia. Assim, o enxaguatório tem um contato mais rápido com os tecidos dentais em comparação ao gel clareador. Contudo, considerando o protocolo de tratamento originalmente descrito, o gel clareador foi aplicado em um tempo reduzido e também o produto continha nitrato de potássio, fatores que podem justificar a reduzida intensidade de sensibilidade observada neste grupo (Mailart et al., 2020; Mailart et al., 2021). Verificou-se que o nitrato de potássio tem um papel significativo na redução da sensibilidade dental (Martini et al., 2021; Wang et al., 2015), despolarizando as fibras nervosas pela atuação nas bombas de sódio e potássio, impedindo então a repolarização e propagação do impulso nervoso (Haywood et al., 2001; Hodosh, 1974; Martini et al., 2021).

No presente estudo, não houve diferença entre os tratamentos para as concentrações de cálcio e fósforo analisadas. No entanto, a concentração de cálcio diminuiu após o término dos tratamentos. O potencial de atuação dos agentes clareadores sobre conteúdo mineral do esmalte é controverso. Fatores como pH, concentração do peróxido, tempo de aplicação, tipo de espessante podem influenciar o processo (Andrade et al., 2021; Borges et al., 2021). Ainda, a presença de agentes remineralizantes, como fluoretos nos agentes testados neste estudo, pode minimizar este potencial deletério. (Borges et al., 2010; Borges et al., 2012; Torres et al., 2019). Embora estatisticamente tenha sido verificada a diminuição no conteúdo mineral, esta redução corresponde a 6,70% da concentração inicial. Assim, isso pode não ser clinicamente relevante para que se considere algum prejuízo na estrutura do esmalte, uma vez que quando a análise foi realizada uma semana após o término dos tratamentos, verificou-se que os valores foram restabelecidos quando comparados aos valores iniciais. Estes resultados são reforçados por outros estudos *in vitro* (Borges et al., 2021; Borges et al., 2012b; Santos et al., 2016b; Torres et al., 2013; Torres et al., 2019) e estudos clínicos (do Amaral et al., 2012; Mailart et al., 2021; Pinto et al., 2019).

A maioria dos participantes tanto do grupo que utilizou enxaguatório clareador (LWE) quanto do grupo que utilizou o gel clareador (OPF) ficou satisfeita com o resultado da alteração de cor dos dentes obtida com os tratamentos. Isto reflete os

valores obtidos no cálculo de diferença de cor ($\Delta E_{00}=2,57$ para LWE e $\Delta E_{00}= 4,30$ para OPF) que foi superior ao limite de aceitabilidade ($\Delta E_{00} = 1,8$) (Paravina et al., 2015). Como uma tentativa de guiar a interpretação destes valores e mostrar a eficácia do tratamento, pode-se considerar os valores obtidos com o gel como “muito boa efetividade” e com o enxaguatório clareador como “boa efetividade”, de acordo com a classificação proposta por Paravina et al. (2019). Embora não tenha sido verificada alteração de cor com o enxaguatório placebo, alguns participantes deste grupo (33,33%) relataram satisfação com a cor dos dentes após o tratamento. Este achado pode ser explicado pelo efeito placebo, alvo de discussão e estudos na neurociência. Não há um consenso que afirme que o efeito placebo seja algo real (Miller, Rosenstein, 2006). Especula-se que a resposta terapêutica de um tratamento seja obtida pelo efeito placebo de tomar, por exemplo, o medicamento, o benefício terapêutico de receber atenção clínica (incluindo receber um diagnóstico e segurança) e a ideia de estar se resolvendo o problema. Por esses fatores, o paciente tem a percepção de que o tratamento está trazendo benefícios (Miller, Rosenstein, 2006; Thomas, 1994).

Após dois anos do término das intervenções, os dentes mantiveram a cor obtida. Não há estudos na literatura que avaliaram a longevidade clareadora de tratamento com enxaguatório em um estudo clínico randomizado. No entanto, a longevidade do tratamento clareador com géis a base de peróxido de hidrogênio e carbamida foi verificada em estudos clínicos com diferentes tempos de acompanhamento, de 6 a 42 meses (Aka, Celik, 2017; Llena et al., 2020; Mailart et al., 2021). A longevidade dos tratamentos está diretamente relacionada à mudança estrutural da composição dos tecidos dentais. O mecanismo de ação dos agentes clareadores tem sido investigado para se compreender exatamente qual estrutura cromogênica é clivada, resultando no clareamento dos dentes. Ao entrar em contato com a superfície dental, o agente clareador se decompõe em uma série de reações químicas até a obtenção dos subprodutos água e radicais livres.

O peróxido de hidrogênio é um forte agente oxidante por formar radicais hidroxila e perhidroxila, ânions superóxido e ânions peróxido de hidrogênio (Jiang et al., 2018). Especula-se que as espécies reativas de oxigênio produzidas pelo peróxido de hidrogênio modificam os cromóforos dos tecidos dentais duros em estruturas mais simples, alterando suas propriedades ópticas (Jiang et al., 2018). Além disso, baseado

na fluorescência do tecido dental, descobriu-se que a fosfoproteína dentinária, principal proteína não-colagenosa presente na dentina, contribui para a fluorescência e cor deste tecido. O peróxido de hidrogênio pode então clarear a dentina pela oxidação desta proteína, mais especificamente, o grupo R de aminoácidos aromáticos da fosfoproteína dentinária (Jiang et al., 2018).

Ainda, a longevidade do tratamento clareador pode também estar relacionada a fatores referentes aos hábitos e dieta do indivíduo (Joiner, 2006). São poucos estudos que verificaram os hábitos alimentares bem como a satisfação dos participantes da pesquisa após o término do período de intervenção. No presente estudo, pudemos observar alguns diferentes comportamentos em relação a frequência de ingestão de alimentos e bebidas corantes entre os grupos de tratamento. No geral, a maioria dos participantes relataram consumir café mais de 2 a 3x/dia. Considerando uma maior frequência de consumo de café, os participantes que utilizaram gel clareador (38,46%) relataram consumir café entre 4 ou mais vezes ao dia, e no grupo que utilizou o enxaguatório clareador o consumo com essa referida frequência foi de 25%. O consumo de vinho não foi expressivo nos grupos de tratamento, uma vez que a maioria dos participantes relataram o consumir de 1x/mês a não terem o consumo. Poucos participantes relataram consumir chás. Somente no grupo que utilizou o enxaguatório clareador, 33,33% dos participantes relataram o consumo diário. Com relação aos alimentos potencialmente corantes, o consumo não foi frequente na dieta dos participantes. Isso poderia explicar o porquê dos resultados obtidos após os tratamentos se mantiveram após dois anos. Diferentemente, um outro estudo que avaliou a longevidade do tratamento clareador com géis de peróxido de carbamida a 10% e 16% verificaram que houve recidiva da cor devido ao aumento dos parâmetros a^* e b^* após dois anos de acompanhamento e que a influência dos aspectos dietéticos na longevidade pode ser considerada leve (Meireles et al., 2010).

Estes alimentos e bebidas pigmentados contêm elevados níveis de polifenóis que apresentam alta afinidade com as proteínas salivares presentes na película adquirida. Por esta razão, a película adquirida é o principal local de deposição de pigmentos. A interação entre o polifenol e a proteína salivar ocorre por ligações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio, permitindo a formação do complexo “polifenol-proteína” que se adere à superfície dental (Abdallah et al., 2014). Essa forte aderência também é explicada pela interação que este complexo tem com os cristais minerais

(hidroxiapatita) da superfície dental, promovendo então o manchamento (Abdallah et al., 2014; Shellis et al., 2005).

Após dois anos do término do tratamento, 58% e 69% dos participantes dos grupos que utilizaram enxaguatório clareador e gel, respectivamente, relataram estarem satisfeitos com a cor dos dentes, no entanto, a maioria dos participantes desses dois grupos percebeu um amarelamento dos seus dentes, mesmo os resultados da análise cor tanto subjetiva como objetiva terem mostrado o contrário. A mesma situação também ocorreu em um estudo prévio (Meireles et al., 2020). Esta percepção do participante pode estar atrelada à memória que ele tem da antiga cor dos dentes e por ter se passado algum tempo do término do tratamento.

No geral, os resultados deste estudo mostraram que o clareamento com enxaguatório clareador promoveu resultado satisfatório, embora em menor grau que o obtido com gel à base de peróxido de carbamida a 10%. Ele mostrou ser alternativa eficaz para alteração de cor dos dentes e com relato de satisfação pela maioria dos participantes, sem prejuízo significativo para o esmalte dental e tecidos moles adjacentes. Contudo, há que se ressaltar que esses resultados foram conseguidos devido à constante supervisão e orientação dos pesquisadores. São necessários cautela e o correto diagnóstico para a extrapolação desses dados para a prática clínica, pois os enxaguatórios requerem disciplina e um longo período de uso para se atingir uma eficácia clareadora que possa resultar em um adequado grau de satisfação pelo paciente.

6.2 Estudo *in vitro*

Em relação ao potencial de desmineralização do esmalte, os produtos testados apresentaram efeito restrito apenas à superfície deste tecido, não causando perda mineral durante a ciclagem de pH. Uma menor intensidade de reflexão superficial foi observada para o gel clareador e controle negativo. O efeito dos agentes clareadores na superfície do esmalte tem sido investigado em vários estudos laboratoriais (Basting et al., 2003; Berger et al., 2012; Borges et al., 2021; Salomão et al., 2014; Xu et al., 2011), que mostram uma leve desmineralização (ou efeito erosivo)

e aumento da rugosidade mesmo com o uso de géis de pH neutro (Borges et al., 2021; Borges et al., 2012; Salomão et al., 2014; Torres et al., 2019). Esses estudos, no entanto, não verificaram o efeito dos agentes clareadores em um modelo de ciclagem de pH, como adotado no presente estudo simulando um desafio cariogênico. Assim, foi verificado que, embora alguns produtos tenham causado uma leve diminuição na reflexão da superfície do esmalte, nenhuma desmineralização real (formação de lesão incipiente de cárie) foi observada durante a ciclagem do pH. Especula-se que esta alteração pode estar relacionada a um aumento na rugosidade da superfície.

O enxaguatório clareador apresentou o maior valor relativo de intensidade da reflexão de superfície, com apenas 13% de diminuição dos valores após a ciclagem de pH. Essa alteração microestrutural provavelmente possui pouca relevância clinicamente, pois é importante considerar que a exposição constante à saliva desempenha um papel crucial no processo de desmineralização/remineralização. A saliva é responsável por endurecer e restaurar o conteúdo mineral do esmalte clareado (Basting et al., 2003; Borges et al., 2021; Torres et al., 2018).

Com base nos resultados da lesão incipiente de cárie, a ciclagem de pH e os tratamentos contribuíram para uma diminuição na intensidade de reflexão da superfície, com menor perda mineral observada no enxaguatório placebo. Assim, podemos rejeitar a segunda hipótese nula. A alteração da superfície do esmalte foi verificada com um reflectômetro óptico capaz de medir a perda de reflexão da superfície da lesão incipiente de carie (Carvalho et al., 2021). Os estágios iniciais da desmineralização do esmalte envolvem o alargamento dos espaços intercristalinos com o amolecimento da microsuperfície mais externa, tornando-a mais porosa e rugosa (Ando et al., 2018; Fejerskov et al., 2015; Kidd, Fejerskov, 2004). Isso é mais evidente no esmalte polido, como utilizado no presente estudo, uma vez que superfícies planas e polidas se mostraram mais suscetíveis à desmineralização (Sullivan, 1954).

Uma vez que os espécimes foram desmineralizados, eles foram submetidos à ciclagem de pH concomitantemente com o uso dos tratamentos. Como todos os grupos apresentaram diminuição semelhante na reflexão superficial após a ciclagem, o baixo pH da solução desmineralizante pode ter sido o principal responsável pela alteração superficial da lesão (Berger et al., 2012). Assim, especula-se que os

tratamentos não poderiam contribuir para proteger a superfície cariiosa contra um severo desafio cariogênico.

Os agentes clareadores testados são à base de peróxidos. O enxaguatório clareador possui 2,5% de peróxido de hidrogênio e o gel clareador é composto por 10% de peróxido de carbamida. Como o peróxido de carbamida se decompõe em, aproximadamente, 3% de peróxido de hidrogênio e uréia (Mailart et al., 2020), ambos os tratamentos de clareamento foram realizados com concentração semelhante de ingrediente ativo. Embora a concentração do princípio ativo seja considerada baixa no enxaguatório clareador, o peróxido de hidrogênio tem um forte efeito oxidativo, que pode promover mudanças na morfologia da superfície (Borges et al., 2010; Cavalli et al., 2004) e potencialmente afetar o conteúdo mineral superficial do esmalte. Esses efeitos também estão diretamente relacionados ao pH do produto, tempo de exposição e, em relação ao gel, ao tipo de agente espessante (Andrade et al., 2021; Basting et al., 2003.; Jurema et al., 2018.). Embora o gel clareador utilizado tenha pH próximo ao neutro ($6,35 \pm 0,02$), ele foi aplicado na superfície da área desmineralizada por um período maior (2 h) em comparação ao enxaguatório clareador (2 min) que apresenta pH ácido ($3,67 \pm 0,03$). Além disso, todos os produtos testados continham flúor. O enxaguatório placebo serviu como controle para o enxaguatório clareador, por isso foi fabricado com a mesma composição sem peróxido de hidrogênio. Assim, o único ingrediente ativo neste produto é o fluoreto de sódio e como esta solução também diminuiu a intensidade de reflexão da superfície da lesão incipiente de cárie, pode-se especular que o peróxido de hidrogênio não afetou a retenção de fluoreto na superfície do dente.

Como esperado, não foi encontrado flúor nos espécimes de esmalte que não foram submetidas à ciclagem de pH, uma vez que os níveis de flúor foram mínimos. Assim, após a ciclagem de pH, o flúor verificado tanto na superfície como no interior da lesão incipiente de cárie foi proveniente dos tratamentos. Fatores como tempo, pH e concentração interferem no potencial de adsorção de flúor à superfície dental (Saxegaard, Rölla, 1998; Petzold, 2001). Para simular as recomendações clínicas, o gel foi aplicado por 2 h e as soluções apenas por 2 min. A concentração de flúor no gel clareador é quase 10 vezes maior do que o flúor contido em ambos os enxaguatórios. Assim, a aplicação mais longa e a maior concentração de flúor (~ 1023 ppm F^-) poderiam explicar a maior concentração de flúor encontrado neste grupo.

Embora os enxaguantes bucais testados tenham um pH ácido (abaixo de 4), a concentração de flúor nesses produtos é baixa (~100 ppm F⁻) e presumivelmente não desempenhou papel relevante no potencial de adsorção de flúor na superfície da lesão incipiente de cárie (Duckworth et al., 2009; Saxegaard, Rølla, 1988).

Considerando a subsuperfície da lesão incipiente de cárie, o flúor também foi verificado em duas profundidades diferentes. Para as superfícies externa e interna (profundidades 75 e 125 µm, respectivamente), maior concentração de flúor também foi observada nos espécimes tratados com gel clareador. O tratamento com enxaguatório clareador apresentou valores intermediários, sendo que maior concentração de flúor foi detectada na superfície externa e não na interna. O enxaguatório placebo não levou à incorporação de flúor no interior da lesão incipiente de cárie. Especula-se que o peróxido de hidrogênio no enxaguatório clareador pode ter contribuído para a difusão do flúor na região subsuperficial externa da lesão, devido ao seu potencial de atuação no conteúdo orgânico do dente. A presença de agentes desproteinizantes pode favorecer o potencial de remineralização dos fluoretos, por atuar nas proteínas salivares presentes nas porosidades do esmalte, facilitando o acesso dos íons para o interior do esmalte (Robinson et al., 1990; Salomão et al., 2014). Assim, a presença de peróxido de hidrogênio pode ser considerada como um ingrediente positivo no potencial de remineralização de agentes fluoretados, o que implica em mais investigações nesse sentido.

No entanto, embora tenha-se observado maiores quantidades de flúor no interior da lesão com os enxaguatórios e gel, isto não impediu de forma significativa a perda adicional de minerais diante de um alto desafio cariogênico, uma vez que os produtos à base de peróxidos apresentaram valores intermediários de perda mineral, conforme também observado em um estudo anterior com géis clareadores (Jansen et al., 2021). Esta observação também pode ser explicada pela diminuição dos valores de intensidade de reflexão superficial discutidos acima (Ando et al., 2018; Carvalho et al., 2021).

Na tentativa de correlacionar as duas áreas (esmalte tratado e lesão incipiente de cárie tratada) submetidas à ciclagem de pH, espera-se comportamentos diferentes dos produtos testados para essas superfícies distintas, pois exibem diferentes características (Berger et al., 2012). Espécimes de esmalte bovino foram utilizados como substrato experimental, uma vez que apresentam teor orgânico e relação

cálcio/fósforo semelhante aos dentes humanos (Yassen et al., 2011). Visando mimetizar a condição clínica, foi adotado um modelo de ciclagem de pH de 28 dias, mas o período necessário para os tratamentos clareadores na situação clínica pode variar de acordo com a satisfação do paciente com os resultados do clareamento, principalmente com o enxaguatório clareador que não exige supervisão para seu uso. Além disso, é importante considerar o efeito da saliva natural, que não só atuará na remineralização do esmalte, mas também contém inúmeras proteínas que podem afetar a ação do flúor, obliterando parcialmente as porosidades da superfície do esmalte, dificultando difusão de íons de cálcio e fosfato no interior da lesão (Kidd, Fejerskov, 2004; Robinson et al., 1990).

7 CONCLUSÃO

Pode – se concluir com o estudo da primeira parte que o enxaguatório contendo peróxido apresentou eficácia clareadora, embora em menor grau que o gel. Houve baixa intensidade de sensibilidade e ausência de inflamação gengival para todos os grupos. Os produtos não promoveram desmineralização do esmalte comparados ao grupo placebo. O grau de satisfação obtido com o gel (100%) foi maior do que com o enxaguatório clareador (67%). Houve manutenção da cor dos dentes tratados após dois anos de acompanhamento.

Pode – se concluir com o estudo da segunda parte que o enxaguatório clareador fluoretado apresentou menor redução da reflexão da superfície do esmalte sadio após o desafio cariogênico, sugerindo efeito protetor contra a desmineralização. Quando a lesão incipiente de cárie estava presente, os produtos clareadores não diminuíram a perda mineral nem aumentaram a reflexão da superfície, embora o flúor tenha sido detectado em diferentes profundidades das lesões.

Como conclusão geral, o enxaguatório clareador promoveu alteração de cor que se manteve após dois anos de acompanhamento sem causar efeitos adversos clinicamente relevantes. Ainda, o enxaguatório clareador promoveu menor rugosidade superficial do esmalte e nas lesões incipientes de carie, os produtos clareadores não diminuíram perda mineral e nem aumentaram a rugosidade de superfície.

REFERÊNCIAS

Abdallah MN, Light N, Amin WM, Retrouvey JM, Cerruti M, Tamimi F. Development of a composite resin disclosing agent based on the understanding of tooth staining mechanisms. *J Dent*. 2014 Jun;42(6):697-708. doi: 10.1016/j.jdent.2014.03.004. PubMed PMID: 24632474.

American Dental Association. Acceptance program requirements: home-use tooth bleaching products. Chicago: American Dental Association; 2016.

Alkahtani R, Stone S, German M, Waterhouse P. A review on dental whitening. *J Dent*. 2020 Sep;100:103423. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103423. [Epub ahead of print]. PubMed PMID: 32615235.

Aka B, Celik EU. Evaluation of the efficacy and color stability of two different at-home bleaching systems on teeth of different shades: a randomized controlled clinical trial. *J Esthet Restor Dent*. 2017;29(5):325-38. doi: 10.1111/jerd.12296. PubMed PMID: 28322505.

Alomari Q, El Daraa E. A randomized clinical trial of in-office dental bleaching with or without light activation. *J Contemp Dent Prac*. 2010;11(1):E017-24. Pubmed PMID: 20098962.

Al-Shahrani AA, Levon JA, Hara AT, Tang Q, Lippert F. The ability of dual whitening anti-caries mouthrinses to remove extrinsic staining and enhance caries lesion remineralization – an in vitro study. *J Dent*. 2020;103S:100022. doi: 10.1016/j.jjodo.2020.100022. [Epub ahead of print]. PubMed PMID: 34059305.

Al Shethri S, Matis BA, Cochran MA, Zekonis R, Stropes M. A clinical evaluation of two in-office bleaching products. *Oper Dent*. 2003 Sep-Oct;28(5):488-95. PubMed PMID: 14531592.

Altenburger MJ, Schirrmeister JF, Lussi A, Klasser M, Hellwig E. In situ fluoride retention and remineralization of incipient carious lesions after the application of different concentrations of fluoride. *Eur J Oral Sci*. 2009 Feb;117(1):58–63. doi: 10.1111/j.1600-0722.2008.00585.x. PubMed PMID: 19196319.

Amaral FLB, Sasaki RT, da Silva TCR, Fran a FMG, Fl rio FM, Basting RT. The effects of home-use and in-office bleaching treatments on calcium and phosphorus concentrations in tooth enamel: an in vivo study. *J Am Dent Assoc*. 2012 Jun;143(6):580–6. doi: 10.14219/jada.archive.2012.0236. PubMed PMID: 22653937.

American Academy of Cosmetic Dentistry (AACD). Cosmetic Dentistry - State of the Industry. Survey 2015. 2015.

Ando M, Shaikh S, Eckert G. Determination of caries lesion activity: reflection and roughness for characterization of caries progression. *Oper Dent*. 2018 May/Jun;43(3):301–6. doi: 10.2341/16-236-L. PubMed PMID: 29676973.

Andrade ACM, Tenuta LMA, Borges AB, Torres CRG. Effect of a hydrogen peroxide bleaching agent with calcium and phosphorus-containing salts on enamel surface hardness and roughness. *Am J Dent*. 2021 Aug;34(4):215–21. PubMed PMID: 34370915.

Askar H, Krois J, Rohrer C, Mertens S, Elhennawy K, Ottolenghi L, et al. Detecting white spot lesions on dental photography using deep learning: a pilot study. *J Dent*. 2021 Apr;107:103615. doi: 10.1016/j.jdent.2021.103615. [Epub ahead of print]. PubMed PMID: 33617941.

Azer SS, Hague AL, Johnston WM. Effect of pH on tooth discoloration from food colorant in vitro. *J Dent*. 2010;38 Suppl 2:e106-9. doi: 10.1016/j.jdent.2010.07.014. PubMed PMID: 20692318.

Banfield JF, Welch SA, Zhang H, Ebert TT, Penn RL. Aggregation-based crystal growth and microstructure development in natural iron oxyhydroxide biomineralization products. *Science*. 2000 Aug 4;289(5480):751-4. doi: 10.1126/science.289.5480.751. PubMed PMID: 10926531.

Barghi N. Making a clinical decision for vital tooth bleaching: at-home or in-office? *Compend Contin Educ Dent*. 1998 Aug;19(8):831-8. PubMed PMID: 9918107.

Basting RT, Amaral FL, Franca FM, Florio FM. Clinical comparative study of the effectiveness of and tooth sensitivity to 10% and 20% carbamide peroxide home-use and 35% and 38% hydrogen peroxide in-office bleaching materials containing desensitizing agents. *Oper Dent*. 2012 Sep-Oct;37(5):464-73. doi: 10.2341/11-337-C. PubMed PMID: 22616927.

Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC. The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. *J Am Dent Assoc*. 2003 Oct;134(19):1335–42. doi: 10.14219/jada.archive.2003.0047. PubMed PMID: 14620012.

Battersby PD, Battersby SJ. Measurements and modelling of the influence of dentine colour and enamel on tooth colour. *J Dent*. 2015 Mar;43(3):373–81. doi: 10.1016/j.jdent.2014.11.003. PubMed PMID: 25449957.

Benbachir N, Ardu S, Krejci I. Spectrophotometric evaluation of the efficacy of a new in-office bleaching technique. *Quintessence Int*. 2008 Apr;39(4):299-306. PubMed PMID: 19081898.

Berger SB, Pavan S, dos Santos PH, Giannini M, Bedran-Russo AKB. Effect of bleaching on sound enamel and with early artificial caries lesions using confocal laser microscopy. *Braz Dent J*. 2012;23(2):110–5. doi: 10.1590/s0103-64402012000200004. PubMed PMID: 22666767.

Bernardon JK, Sartori N, Ballarin A, Perdigao J, Lopes GC, Baratieri LN. Clinical performance of vital bleaching techniques. *Oper Dent*. 2010 Jan-Feb;35(1):3-10. doi: 10.2341/09-008CR. PubMed PMID: 20166405.

Bernardon JK, Vieira Martins M, Branco Rauber G, Monteiro Junior S, Baratieri LN. Clinical evaluation of different desensitizing agents in home-bleaching gels. *J Prosthet Dent*. 2016 Jun;115(6):692-6. doi: 10.1016/j.prosdent.2015.10.020. Pubmed PMID: 26794704.

Bonafe E, Bacovis CL, Iensen S, Loguercio AD, Reis A, Kossatz S. Tooth sensitivity and efficacy of in-office bleaching in restored teeth. *J Dent*. 2013 Apr;41(4):363-9. doi: 10.1016/j.jdent.2013.01.007 Pubmed PMID: 23357647.

Borges AB, de Abreu FS, Mailart MC, Zanatta RF, Torres CRG. Efficacy and safety of bleaching gels according to application protocol. *Oper Dent*. 2021 Mar;46(2):E105–16. doi: 10.2341/19-253-L. PubMed PMID: 34086959.

Borges AB, Torres CRG, de Souza PAB, Caneppele TMF, Santos LFTF, Magalhães AC. Bleaching gels containing calcium and fluoride: effect on enamel erosion susceptibility. *Int J Dent*. 2012;2012:347848. doi: 10.1155/2012/347848. PubMed PMID: 23193404.

Borges AB, Yui KCK, D'Avila TC, Takahashi CL, Torres CRG, Borges ALS. Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness in different time intervals. *Oper Dent*. 2010 Mar-Apr; 35(2):180–6. doi: 10.2341/09-117-L. PubMed PMID: 204200061.

Borges AB, Zanatta RF, Barros AC, Silva LC, Pucci CR, Torres CR. Effect of hydrogen peroxide concentration on enamel color and microhardness. *Oper Dent*. 2015 Jan-Feb;40(1):96-101. doi: 10.2341/13-371-L. PubMed PMID: 25136902.

Braun A, Jepsen S, Krause F. Spectrophotometric and visual evaluation of vital tooth bleaching employing different carbamide peroxide concentrations. *Dent Mater*. 2007 Feb;23(2):165-9. doi: 10.1016/j.dental.2006.01.017. Pubmed PMID: 16504281.

Brown FN, Mackie AR, He Q, Branch A, Sarkar A. Protein-saliva interactions: a systematic review. *Food Func*. 2021 Apr 21;12(8):3324-51. doi: 10.1039/d0fo03180a. PubMed PMID: 33900320.

Browning WD, Chan DC, Myers ML, Brackett WW, Brackett MG, Pashley DH. Comparison of traditional and low sensitivity whiteners. *Oper Dent*. 2008 Jul-Aug;33(4):379-85. doi: 10.2341/07-134 Pubmed PMID: 18666494.

Brudevold F, Reda A, Aasenden R, Bakhos Y. Determination of trace elements in surface enamel of human teeth by a new biopsy procedure. *Arch Oral Biol*. 1975 Oct;20(10):667-73. Pubmed PMID: 1059390.

Buskes J, Christoffersen J, Arends J. Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res*. 1985;19(6):490–6. doi: 10.1159/000260887. PubMed PMID: 3865704.

Campos-Martin JM, Blanco-Brieva G, Fierro JL. Hydrogen peroxide synthesis: an outlook beyond the anthraquinone process. *Angew Chem.* 2006 Oct 27;45(42):6962-84. doi. 10.1002/anie.200503779 Pubmed PMID: 17039551.

Carvalho TS, B necker M, Altenburger MJ, Buzalaf MAR, Sampaio FC, Lussi A. Fluoride varnishes containing calcium glycerophosphate: fluoride uptake and the effect on in vitro enamel erosion. *Clin Oral Investig.* 2015 Jul;19(6):1429–36. doi: 10.1007/s00784-014-1363-6. PubMed PMID: 25416637.

Carvalho TS, Lussi A. Age-related morphological, histological and functional changes in teeth. *J Oral Rehabil.* 2017 Apr;44(4):291–8. doi: 10.1111/joor.12474. PubMed PMID: 28032898.

Carvalho TS, Pham KN, Niemeyer SH, Baumann T. The effect of red wine in modifying the salivary pellicle and modulating dental erosion kinetics. *Eur J Oral Sci.* 2021 Feb; 129(1):e12749. doi: 10.1111/eos.12749. PubMed PMID: 33381873.

Carvalho TS, Stauffacher S, Eick S, Litzenburger F, Lussi A, Neuhaus K. Using an optical reflectometer to measure caries lesion activity on enamel. *BMC Oral Health.* 2021.

Cavalli V, Giannini M, Carvalho RM. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dent Mater.* 2004 Oct; 20(8):733–9. doi: 10.1016/j.dental.2003.10.007. PubMed PMID: 15302454.

Cavalli V, Rodrigues LKA, Paes-Leme AF, Soares LES, Martin AA, Berger SB, et al. Effects of the addition of fluoride and calcium to low-concentrated carbamide peroxide agents on the enamel surface and subsurface. *Photomed Laser Surg.* 2011 May;29(5):319–25. doi: 10.1089/pho.2010.2797. PubMed PMID: 21204703.

Chia-Chun Yuan J, Brewer JD, Monaco EA, Davis EL. Defining a natural tooth color space based on a 3-dimensional shade system. *J Prosthet Dent.* 2007 Aug;98(2):110–9. doi: 10.1016/S0022-3913(07)60044-4. PubMed PMID: 17692592.

Comission Internationale l'Eclairage. Recommendations on uniform color spaces, color difference equations, pshychometric color terms. Supplement 2 to CIE publication 15 (E2-31.1)1971 (TC-1.3)1978. Paris, France: Bureau Central de la CIE; 1978.

da Costa JB, McPharlin R, Paravina RD, Ferracane JL. Comparison of at-home and in-office tooth whitening using a novel shade guide. *Oper Dent.* 2010 Jul-Aug;35(4):381-8. doi. 10.2341/09-344-C. Pubmed PMID: 20672721.

Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching--a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(4):292-304. PubMed PMID: 12907697.

de Geus JL, Wambier LM, Kossatz S, Loguercio AD, Reis A. At-home vs in-office bleaching: a systematic review and meta-analysis. *Oper Dent.* 2016 Jul-Aug;41(4):341-56. doi. 10.2341/15-287-LIT. PubMed PMID: 27045285.

de Paula EA, Nava JA, Rosso C, Benazzi CM, Fernandes KT, Kossatz S, et al. In-office bleaching with a two- and seven-day intervals between clinical sessions: a randomized clinical trial on tooth sensitivity. *J Dent*. 2015 Apr;43(4):424-9. doi: 10.1016/j.jdent.2014.09.009 PubMed PMID: 25257824.

Dietschi D, Benbachir N, Krejci I. In vitro colorimetric evaluation of the efficacy of home bleaching and over-the-counter bleaching products. *Quintessence Int*. 2010 Jun;41(6):505-16. Pubmed PMID: 20490393.

Drynan JW, Clifford MN, Obuchowicz J, Kuhnert N. The chemistry of low molecular weight black tea polyphenols. *Nat Prod Rep*. 2010 Mar;27(3):417-62. doi: 10.1039/b912523j. PubMed PMID:20179879.

Duckworth RM, Maguire A, Omid N, Steen IN, McCracken GI, Zohoori FV. Effect of rinsing with mouthwashes after brushing with a fluoridated toothpaste on salivary fluoride concentration. *Caries Res*. 2009;43(5):391-6. doi: 10.1159/000239753. PubMed PMID: 19776570.

Dudea D, Gasparik C, Botos A, Alb F, Irimie A, Paravina RD. Influence of background/surrounding area on accuracy of visual color matching. *Clin Oral Investig*. 2016 Jul;20(6):1167-73. doi: 10.1007/s00784-015-1620-3. PubMed PMID: 26459306.

Dozic A, Kleverlaan CJ, El-Zohairy A, Feilzer AJ, Khashayar G. Performance of five commercially available tooth color-measuring devices. *J Prosthodont*. 2007 Mar-Apr;16(2):93-100. doi: 10.1111/j.1532-849X.2007.00163.x Pubmed PMID: 17362418.

Erdfelder E, FAul F, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods*. 2009 Nov; 41(4):1149-60. doi: 10.3758/BRM.41.4.1149. PubMed PMID: 19897823.

Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E, Blackwell Y. *Dental Caries - The Disease and Its Clinical Management*. 3rd ed. Wiley; 2015.

Flemming J, Meyer-Probst CT, Speer K, Kölling-Speer I, Hannig C, Hannig M. Preventive applications of polyphenols in dentistry—a review. *Int J Mol Sci*. 2021 May 5;22(9):4892. doi: 10.3390/ijms22094892. PubMed PMID: 34063086.

Gerlach RW, Zhou X. Vital bleaching with whitening strips: summary of clinical research on effectiveness and tolerability. *J Contemp Dent Prac*. 2001 Aug 15;2(3):1-16. Pubmed PMID: 12167923.

Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undesirable and adverse effects of tooth whitening products: A review. *Clin Oral Investig*. 2010 Feb;14(1):1–10. doi: 10.1007/s00784-009-0302-4. PubMed PMID: 19543926.

Gomez-Polo C, Gomez-Polo M, Celemin-Vinuela A, Martinez Vazquez De Parga JA. Differences between the human eye and the spectrophotometer in the shade

matching of tooth colour. *J Dent.* 2014 Jun;42(6):742-5. doi: 10.1016/j.jdent.2013.10.006. Pubmed PMID: 24140995.

Hattab FN, Qudeimat MA, al-Rimawi HS. Dental discoloration: an overview. *J Esthet Dent.* 1999;11(6):291-310. Pubmed PMID: 10825865.

Haywood VB, Heymann HO. Nightguard vital bleaching. *Quintessence Int.* 1989 Mar;20(3):173-6. PubMed PMID: 2762507.

Haywood VB, Caughman WF, Frazier KB, Myers ML. Tray delivery of potassium nitrate-fluoride to reduce bleaching sensitivity. *Quintessence Int.* 2001 Feb;32(2):105-9. PubMed PMID: 12066670.

He WH, Park CJ, Byun S, Tan D, Lin CY, Chee W. Evaluating the relationship between tooth color and enamel thickness, using twin flash photography, crosspolarization photography, and spectrophotometer. *J Esthet Restor Dent.* 2020 Jan;32(1):91–101. doi: 10.1111/jerd.12553. PubMed PMID: 31823463.

Hegedüs C, Bistey T, Flóra-Nagy E, Keszthelyi G, Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. *J Dent.* 1999 Sep; 27(7):509–15. doi: 10.1016/s0300-5712(99)00006-8. PubMed PMID: 10507207.

Hodosh M. A superior desensitizer--potassium nitrate. *J Am Dent Assoc.* 1974 Apr;88(4):831-2. doi: 10.14219/jada.archive.1974.0174. PubMed PMID: 4521774.

Igiel C, Weyhrauch M, Wentaschek S, Scheller H, Lehmann KM. Dental color matching: A comparison between visual and instrumental methods. *Dent Mater J.* 2016;35(1):63-9. doi: 10.4012/dmj.2015-006 Pubmed PMID: 26830824.

Jaime IM, França FM, Basting RT, Turssi CP, Amaral FL. Efficacy of hydrogen peroxide-based mouthwash in altering enamel color. *Am J Dent.* 2014 Feb;27(4):47-50. Pubmed PMID: 24902405.

Jansen EE, Meyer-Lueckel H, Esteves-Oliveira M, Wierichs RJ. Do bleaching gels affect the stability of the masking and caries-arresting effects of caries infiltration-in vitro. *Clin Oral Investig.* 2021 Jun;25(6):4011–21. doi: 10.1007/s00784-020-03732-4. PubMed PMID: 33319337.

Jiang T, Guo YR, Feng XW, Sa Y, Yang X, Wang M, et al. Hydrogen peroxide might bleach natural dentin by oxidizing phosphoprotein. *J Dent Res.* 2018 Nov;97(12):1339-45. doi: 10.1177/0022034518784260. PubMed PMID: 29939809.

Johnston WM. Color measurement in dentistry. *J Dent.* 2009;37 Suppl 1:e2-6. doi: 10.1016/j.jdent.2009.03.011 Pubmed PMID: 19406551.

Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. *J Dent.* 2004;32 Suppl 1:3–12. doi: 10.1016/j.jdent.2003.10.013. PubMed PMID: 14738829.

Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent*. 2006 Aug;34(7):412-9. doi: 10.1016/j.jdent.2006.02.002. PubMed PMID: 16569473.

Joiner A, Hopkinson I, Deng Y, Westland S. A review of tooth colour and whiteness. *J Dent*. 2008;36 Suppl 1:S2–7. doi: 10.1016/j.jdent.2008.02.001. PubMed PMID: 18646363.

Jurema ALB, Claudino ES, Torres CRG, Bresciani E, Caneppele TMF. Effect of over-the-counter whitening products associated or not with 10% carbamide peroxide on color change and microhardness: in vitro study. *J Contemp Dent Pract*. 2018 Apr;19(4):359–66. doi: 10.5005/jp-journals-10024-2267. PubMed PMID: 29728537.

Karadas M. Efficacy of whitening oral rinses and dentifrices on color stability of bleached teeth. *Acta Biomater Odontol Scand*. 2015 Apr;1(1):29–34. doi: 10.3109/23337931.2015.1039537. PubMed PMID: 28642898.

Kidd E, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*. 2004;83 Spec Iss C:C35–8. doi: 10.1177/154405910408301s07. PubMed PMID: 15286119.

Kihn PW. Vital tooth whitening. *Dental Clin North Am*. 2007 Apr;51(2):319-31, viii. doi: 10.1016/j.cden.2006.12.001. Pubmed PMID: 17532915.

Kose C, Calixto AL, Bauer J, Reis A, Loguercio AD. Comparison of the effects of in-office bleaching times on whitening and tooth sensitivity: a single blind, randomized clinical trial. *Oper Dent*. 2016 Mar-Apr;41(2):138-45. doi: 10.2341/15-085-C. Pubmed PMID: 26509229.

Krithikadatta J, Gopikrishna V, Datta M. CRIS guidelines (Checklist for Reporting Invitro Studies): a concept note on the need for standardized guidelines for improving quality and transparency in reporting in-vitro studies in experimental dental research. *J Conserv Dent*. 2014 Jul;17(4):301-4. doi: 10.4103/0972-0707.136338. PubMed PMID: 25125839.

Larsen MJ. Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res*. 1990 Feb;69 Spec No:575-80; discussion 634-6. doi: 10.1177/00220345900690S114. PubMed PMID: 2179316.

Lehmann KM, Igiel C, Schmidtman I, Scheller H. Four color-measuring devices compared with a spectrophotometric reference system. *J Dent*. 2010;38 Suppl 2:e65-70. doi: 10.1016/j.jdent.2010.07.006 Pubmed PMID: 20659526

Leonard RH, Jr., Bentley CD, Haywood VB. Salivary pH changes during 10% carbamide peroxide bleaching. *Quintessence Int*. 1994 Aug;25(8):547-50. Pubmed PMID: 7568702.

Leonard RH, Jr., Eagle JC, Garland GE, Matthews KP, Rudd AL, Phillips C. Nightguard vital bleaching and its effect on enamel surface morphology. *J Esthet Restor Dent*. 2001;13(2):132-9. Pubmed PMID: 11499448.

Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent*. 2004 Oct;92(4):337-42. doi: 10.1016/S0022391304004858. Pubmed PMID: 15507905.

Li Y. Safety controversies in tooth bleaching. *Dental Clin North Am*. 2011 Apr;55(2):255-63. doi: 10.1016/j.cden.2011.01.003 Pubmed PMID: 21473992.

Lima FG, Rotta TA, Penso S, Meireles SS, Demarco FF. In vitro evaluation of the whitening effect of mouth rinses containing hydrogen peroxide. *Braz Oral Res*. 2012 May-Jun;26(3):269-74. PubMed PMID: 22641448.

Llena C, Villanueva A, Mejias E, Forner L. Bleaching efficacy of at home 16% carbamide peroxide. A long-term clinical follow-up study. *J Esthet Restor Dent*. 2020 Jan;32(1):12-8. doi: 10.1111/jerd.12560. PubMed PMID: 31904193.

Luo W, Westland S, Brunton P, Ellwood R, Pretty IA, Mohan N. Comparison of the ability of different colour indices to assess changes in tooth whiteness. *J Dent*. 2007 Feb;35(2):109-16. doi: 10.1016/j.jdent.2006.06.006. PubMed PMID: 16945462.

Luque-Martinez I, Reis A, Schroeder M, Munoz MA, Loguercio AD, Masterson D, et al. Comparison of efficacy of tray-delivered carbamide and hydrogen peroxide for at-home bleaching: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2016 Sep;20(7):1419-33. doi: 10.1007/s00784-016-1863-7. Pubmed PMID: 27290611.

Maia E, Baratieri LN, Caldeira de Andrada MA, Monteiro S, Jr., Vieira LC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness: an in situ study. *J Dent*. 2008 Jan;36(1):2-7. doi: 10.1016/j.jdent.2007.09.011. Pubmed PMID: 18037555.

Mailart MC, Sakassegawa PA, Santos KC, Torres CRG, Palo RM, Borges AB. One year follow-up comparing at-home bleaching systems outcomes and the impact on patient's satisfaction: randomized clinical trial. *J Esthet Restor Dent*. 2021 Dec;33(8):1175-85. doi: 10.1111/jerd.12814. PubMed PMID: 34453873.

Mailart MC, Ferracioli CS, Torres CRG, Palo RM, Borges AB. Hydrogen peroxide degradation of bleaching systems with different trays: randomized clinical trial. *Am J Dent*. 2020 Apr;33(2):89-94. PubMed PMID: 32259414.

Manno SHC, Manno FAM, Ahmed I, Ahmed R, Shu L, Li L, et al. Spectroscopic examination of enamel staining by coffee indicates dentin erosion by sequestration of elements. *Talanta*. 2018 Nov 1;189:550-9. doi: 10.1016/j.talanta.2018.07.032. PubMed PMID: 30086959.

Martinez KB, Mackert JD, McIntosh MK. Polyphenols and Intestinal Health. *Nutrition and Functional Foods for Healthy Aging* 2017. doi: 10.1016/B978-0-12-805376-8.00018-6.

Martini EC, Favoreto MW, Rezende M, de Geus JL, Loguercio AD, Reis A. Topical application of a desensitizing agent containing potassium nitrate before dental bleaching: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2021 Jul;25(7):4311-27. doi: 10.1007/s00784-021-03994-6. PubMed PMID: 34075489.

Meireles SS, Santos IS, Bona AD, Demarco FF. A double-blind randomized clinical trial of two carbamide peroxide tooth bleaching agents: 2-year follow-up. *J Dent*. 2010 Dec;38(12):956-63. doi: 10.1016/j.jdent.2010.08.003. PubMed PMID: 20709137.

Miller FG, Rosenstein DL. The nature and power of the placebo effect. *J Clin Epidemiol*. 2006 Apr;59(4):331-5. doi: 10.1016/j.jclinepi.2005.12.001. PubMed PMID: 16549251.

Moher D, Chan A-W. SPIRIT 2013 explanation and elaboration: guidance for protocols of clinical trials. *BMJ*. 2014 Jan;346:e7586. doi: 10.1002/9781118715598.ch7. PubMed PMID: 23303884.

Nahsan FPS, Reis MJO, Franciscone-dos-Rios LF, Leao L, Paranhos LR. Effectiveness of whitening mouthwashes on tooth color: an in vitro study. *Gen Dent*. 2018 Mar-Apr;66(2):e7-e10. PubMed PMID: 29513242.

Nicol MJ. The role and use of hydrogen peroxide as an oxidant in the leaching of minerals. II. alkaline solutions. *Hydrometallurgy*. 2020 Jun;194:105365. doi: 10.1016/j.hydromet.2020.105365.

Niemeyer SH, Baumann T, Lussi A, Meyer-Lueckel H, Scaramucci T, Carvalho TS. Salivary pellicle modification with polyphenol-rich teas and natural extracts to improve protection against dental erosion. *J Dent*. 2021 Feb;105:103567. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103567. [Epub ahead of print]. PubMed PMID: 33387569.

Oliveira JBS, Sarlo RS, Bresciani E, Caneppele TMF. Whitening efficacy of whitening mouth rinses used alone or in conjunction with carbamide peroxide home whitening. *Oper Dent*. 2017 May/Jun;42(3):319–26. doi: 10.2341/15-361-L. PubMed PMID: 28157418.

Oshiro M, Kurokawa H, Ando S, Irokawa A, Miyazaki M, Platt JA. The effect of bleaching on the elastic modulus of bovine enamel. *Dent Mater J*. 2007 May;26(3):409-13. Pubmed PMID: 17694752.

Paravina RD, Ghinea R, Herrera LJ, Bona AD, Igiel C, Linninger M, et al. Color difference thresholds in dentistry. *J Esthet Restor Dent*. 2015 Mar-Apr;27 Suppl 1:S1-9. doi: 10.1111/jerd.12149. PubMed PMID: 25886208.

Paravina RD, Johnston WM, Powers JM. New shade guide for evaluation of tooth whitening - Colorimetric study. *J Esthet Restor Dent*. 2007;19(5):276-83. doi: 10.1111/j.1708-8240.2007.00118_1.x. PubMed PMID: 17877628.

Paravina RD, Pérez MM, Ghinea R. Acceptability and perceptibility thresholds in dentistry: A comprehensive review of clinical and research applications. *J Esthet Restor Dent*. 2019 Mar;31(2):103-12. doi: 10.1111/jerd.12465. PubMed PMID: 30891913.

Pecho OE, Ghinea R, Alessandretti R, Pérez MM, della Bona A. Visual and instrumental shade matching using CIELAB and CIEDE2000 color difference formulas. *Dent Mater*. 2016 Jan;32(1):82-92. doi: 10.1016/j.dental.2015.10.015. PubMed PMID: 26631341.

Pérez MDM, Ghinea R, Rivas MJ, Yebra A, Ionescu AM, Paravina RD, et al. Development of a customized whiteness index for dentistry based on CIELAB color space. *Dent Mater*. 2016 Mar;32(3):461-7. doi: 10.1016/j.dental.2015.12.008. PubMed PMID: 26778404.

Pérez MM, Herrera LJ, Carrillo F, Pecho OE, Dudea D, Gasparik C, et al. Whiteness difference thresholds in dentistry. *Dent Mater*. 2019 Feb;35(2):292-297. doi: 10.1016/j.dental.2018.11.022. Pubmed PMID: 30527588.

Petzold M. The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF₂ precipitation and microstructure. *Caries Res*. 2001;35 Suppl 1:45-51. doi: 10.1159/000049110. PubMed PMID: 11359058.

Pinto AVD, Carlos NR, do Amaral FLB, Franca FMG, Turssi CP, Basting RT. At-home, in-office and combined dental bleaching techniques using hydrogen peroxide: randomized clinical trial evaluation of effectiveness, clinical parameters and enamel mineral content. *Am J Dent*. 2019 Jun;32(3):124-132. PubMed PMID: 31295393.

Pinto CF, Paes Leme AF, Cavalli V, Giannini M. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching on sound and artificial enamel carious lesions. *Braz Dent J*. 2009;20(1):48-53. doi: 10.1590/s0103-64402009000100008. PubMed PMID: 194662321.

Pitts G, Brogdon C, Hu L, Masurat T, Pianotti R, Schumann P. Mechanism of action of an antiseptic, anti-odor mouthwash. *J Dent Res*. 1983 Jun;62(6):738-42. doi: 10.1177/00220345830620061001. PubMed PMID: 6574156.

Poljak-Guberina R, Celebic A, Powers JM, Paravina RD. Colour discrimination of dental professionals and colour deficient laypersons. *J Dent*. 2011 Dec;39 Suppl 3:e17-22. doi: 10.1016/j.jdent.2011.09.008. PubMed PMID: 21996337.

Rakhmatullina E, Bossen A, H schele C, Wang X, Beyeler B, Meier C, et al. Application of the specular and diffuse reflection analysis for in vitro diagnostics of dental erosion: correlation with enamel softening, roughness, and calcium release. *J Biomed Opt*. 2011 Oct;16(10):107002. doi: 10.1117/1.3631791. PubMed PMID: 22029364.

Robinson C, Hallsworth AS, Shore RC, Kirkham J. Effect of surface zone deproteinisation on the access of mineral ions into subsurface carious lesions of human enamel. *Caries Res*. 1990;24(4):226-30. doi: 10.1159/000261272. PubMed PMID: 2276155.

Salomão DLF, Santos DM, Nogueira RD, Palma-Dibb RG, Geraldo-Martins VR. Acid demineralization susceptibility of dental enamel submitted to different bleaching techniques and fluoridation regimens. *Oper Dent*. 2014 Jul-Aug;39(4):E178-85. doi: 10.2341/13-140. PubMed PMID: 24673418.

Santos LFTF, Torres CRG, Caneppele TMF, Magalhães AC, Borges AB. Effect of home-bleaching gels modified by calcium and/or fluoride and the application of nanohydroxyapatite paste on in vitro enamel erosion susceptibility. *Acta Odontol Scand*. 2016;74(2):121–6. doi: 10.3109/00016357.2015.1053150. PubMed PMID: 26083582.

Sasaki RT, Arcanjo AJ, Florio FM, Basting RT. Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10% carbamide peroxide and 7.5% hydrogen peroxide. *J Appl Oral Sci*. 2009 Nov-Dec;17(6):611-6. Pubmed PMID: 20027436.

Saxegaard E, Rølla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res*. 1988 Dec;96(6):523-35. doi: 10.1111/j.1600-0722.1988.tb01592.x. PubMed PMID: 3206198.

Schulz KF, Altman DG, Moher David, CONSORT group. CONSORT 2010 Statement: Updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Intern Med*. 2010 Jun;152(11):726–32. doi: 10.7326/0003-4819-152-11-201006010-00232. PubMed PMID: 20335313.

Shellis RP, Addy M, Rees GD. In vitro studies on the effect of sodium tripolyphosphate on the interactions of stain and salivary protein with hydroxyapatite. *J Dent*. 2005 Apr;33(4):313-24. doi: 10.1016/j.jdent.2004.09.006. PubMed PMID: 15781139.

Shellis RP, Featherstone JD, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci*. 2014;25:163-79. doi: 10.1159/000359943. PubMed PMID: 24993265.

Shoji T. Polyphenols as natural food pigments: changes during food processing. *American Journal of Food Technology*. 2007;2(7):570-81. doi: 10.3923/ajft.2007.570.581.

Sieber KR, Schmidt C, Baumann T, Lussi A, Carvalho TS. Acquired enamel pellicle modification with casein and mucin in different concentrations and its impact on initial dental erosion. *Caries Res*. 2019;53(4):457–66. doi: 10.1159/000499579. PubMed PMID: 31085905.

Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev.* 1973;3:100-60. PubMed PMID: 4591492.

Singla RK, Dubey AK, Garg A, Sharma RK, Fiorino M, Ameen SM, et al. Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *J AOAC Int.* 2019 Sep 1;102(5):1397-1400. doi: 10.5740/jaoacint.19-0133. PubMed PMID: 31200785.

Siqueira WL, Custodio W, McDonald EE. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *J Dent Res.* 2012 Dec;91(12):1110-8. doi: 10.1177/0022034512462578. PubMed PMID: 23018818.

Sulieman MA. An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Periodontology* 2000. 2008;48:148-69. doi: 10.1111/j.1600-0757.2008.00258.x. Pubmed PMID: 18715362.

Sullivan HR. The solubility of enamel surfaces. *J Dent Res.* 1954 Aug;33(4):504–10. doi: 10.1177/00220345540330041001. PubMed PMID: 13184039.

ten Bosch JJ, Coops JC. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. *J Dent Res.* 1995 Jan;74(1):374–80. doi: 10.1177/00220345950740011401. PubMed PMID: 7876432.

The International Organization for Standardization. ISO/TR 28642:2016 Dentistry — Guidance on colour measurement, 2016.

Thomas KB. The placebo in general practice. *Lancet.* 1994 Oct 15;344(8929):1066-7. doi: 10.1016/s0140-6736(94)91716-7. PubMed PMID: 7934451.

Torres CR, Crastechini E, Feitosa FA, Pucci CR, Borges AB. Influence of pH on the effectiveness of hydrogen peroxide whitening. *Oper Dent.* 2014 Nov-Dec;39(6):E261-8. doi: 10.2341/13-214-L. Pubmed PMID: 25136903.

Torres CRG, Bonicio G, Crastechini É, Mailart MC, Borges AB. Effect of whitening mouthrinses on enamel toothbrush abrasion. *Am J Dent.* 2018 Dec;31(6):285–9. PubMed PMID: 30658373.

Torres CRG, Perote LCCC, Gutierrez NC, Pucci CR, Borges AB. Efficacy of mouth rinses and toothpaste on tooth whitening. *Oper Dent.* 2013 Jan-Feb;38(1):57–62. doi: 10.2341/11-360-L. PubMed PMID: 22770430.

Torres CRG, Zanatta RF, Silva TJ, Borges AB. Effect of calcium and fluoride addition to hydrogen peroxide bleaching gel on tooth diffusion, color, and microhardness. *Oper Dent.* 2019 Jul/Aug;44(4):424–32. doi: 10.2341/18-113-L. PubMed PMID: 30673372.

Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. *Br Dent J.* 2006 Apr 8;200(7):371-6. doi: 10.1038/sj.bdj.4813423. Pubmed PMID: 16607324.

Tsiliagkou A, Diamantopoulou S, Papazoglou E, Kakaboura A. Evaluation of reliability and validity of three dental color-matching devices. *Int J Esthet Dent*. 2016 Spring;11(1):110-24. Pubmed PMID: 26835527.

Vieira-Junior WF, Ferraz LN, Giorgi M, Ambrosano G, Aguiar F, Lima D. Effect of mouth rinse treatments on bleached enamel properties, surface morphology, and tooth color. *Oper Dent*. 2019 Mar/Apr;44(2):178-187. doi: 10.2341/17-250-L. PubMed PMID: 29953341

Wang Y, Gao J, Jiang T, Liang S, Zhou Y, Matis BA. Evaluation of the efficacy of potassium nitrate and sodium fluoride as desensitizing agents during tooth bleaching treatment - A systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2015 Aug;43(8):913-23. doi: 10.1016/j.jdent.2015.03.015. PubMed PMID: 25913140.

Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: A review of the literature. *Br Dent J*. 2001 Mar 24;190(6):309-16. doi: 10.1038/sj.bdj.4800959. PubMed PMID: 11325156.

Wierichs RJ, Musiol J, Erdwey D, Esteves-Oliveira M, Apel C, Meyer-Lueckel H. Re- and demineralization characteristics of dentin depending on fluoride application and baseline characteristics in situ. *J Dent*. 2020 Mar;94:103305. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103305. PubMed PMID: 32112909.

Xu B, Li Q, Wang Y. Effects of pH values of hydrogen peroxide bleaching agents on enamel surface properties. *Oper Dent*. 2011 Sep-Oct;36(5):554–62. doi: 10.2341/11-045-1. PubMed PMID: 21859312.

Yamagishi K, Onuma K, Suzuki T, Okada F, Tagami J, Otsuki M, et al. Materials chemistry: a synthetic enamel for rapid tooth repair. *Nature*. 2005 Feb 24;433(7028):819. doi: 10.1038/433819a. PubMed PMID: 15729330.

Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci*. 2011 Sep;53(3):273-82. doi: 10.2334/josnurd.53.273. PubMed PMID: 21959653.

Zantner C, Derdilopoulou F, Martus P, Kielbassa AM. Randomized clinical trial on the efficacy of 2 over-the-counter whitening systems. *Quintessence Int*. 2006 Oct;37(9):695-706. Pubmed PMID: 17017631.

Zenthofer A, Cabrera T, Corcodel N, Rammelsberg P, Hassel AJ. Comparison of the Easyshade Compact and Advance in vitro and in vivo. *Clin Oral Investig*. 2014;18(5):1473-9. doi: 10.1007/s00784-013-1118-9. Pubmed PMID: 24100636.

Zekonis R, Matis BA, Cochran MA, al Shetri SE, Eckert GJ, Carlson TJ. Clinical evaluation of in-office and at-home bleaching treatments. *Oper Dent*. 2003 Mar-Apr;28(2):114-21. PubMed PMID: 12670065.

Zero D, Rahbek I, Fu J, Proskin H, Featherstone J. Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test, and mineral dissolution of bovine

enamel following acid challenge. *Caries Res.* 1990;24(3):181–8. doi: 10.1159/000261263. PubMed PMID: 2364403

APÊNDICE A – Instrução aos participantes

Prezado participante, o seu tratamento é:

☐ Para os participantes que receberão o clareamento caseiro: Você deve dispensar o gel clareador dentro da moldeira de acordo com o treinamento que você teve. Após isso, as moldeiras devem ser posicionadas nos arcos dentais. Se o gel extravasar, você deve remover com uma haste com ponta de algodão ou escova ou gaze. Você deve usar as moldeiras com o gel clareador durante 2 horas diárias somente, evitando comer ou beber. Após este período (2 horas), as moldeiras deverão ser removidas e a boca deverá ser lavada para a complete remoção do gel. É importante manter as moldeiras limpas e mantidas em local seco.

ATENÇÃO: este tratamento clareador deve ser feito TODOS os dias por 2 horas durante 14 dias.

☐ Para os participantes que receberão os enxaguatórios: Após a escovação de seus dentes, faça um bochecho vigoroso com 15 ml do enxaguatórios por 30 segundos e então expectore. Não engula o enxaguatórios e só coma/beba após 30 minutos do bochecho.

ATENÇÃO: este tratamento clareador deve ser feito TODOS os dias por 30 segundos, 2 vezes ao dia, durante 3 meses.

RECOMENDAÇÕES PARA TODOS OS GRUPOS

- Faça sua higiene bucal normalmente com movimentos cuidadosos durante a escovação. Você deve usar a pasta e escova que você recebeu. Por favor, se sua pasta acabar antes do término do tratamento clareador, nos avise!
- Se você tiver sensibilidade dental, entre em contato imediatamente!
- Sua COLABORAÇÃO é EXTREMAMENTE IMPORTANTE para este estudo. O tempo de uso das moldeiras e do enxaguatórios DEVEM SER RESPEITADOS, bem como o uso ininterrupto das moldeiras e dos enxaguatórios são essenciais para que a pesquisa tenha resultados reais e verdadeiros.

MUITO OBRIGADA POR SUA COLABORAÇÃO!!!

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa: “Eficácia e segurança de enxaguatórios clareadores: estudo clínico controlado randomizado”, que possui como pesquisador responsável a Profa. Adj. Alessandra Bühler Borges, do Departamento de Dentística do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos. Antes de concordar em participar desse estudo, é importante que você leia com atenção esse formulário. Ele descreve os objetivos, procedimentos, benefícios, riscos e desconfortos do estudo. As informações contidas neste formulário têm objetivo de firmar acordo escrito mediante o qual você -o voluntário- autoriza a sua participação na pesquisa, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos a que se submeterá, com capacidade de livre-arbítrio e sem qualquer coação.

Contexto e objetivos da pesquisa

O clareamento dental representa um grande desejo dos pacientes que buscam tratamento dentário. O clareamento dental é um tratamento minimamente invasivo no qual o dente se torna mais iluminado e menos amarelo. Embora o clareamento seja supervisionado pelo dentista, é possível encontrar produtos de venda livre ao consumidor, como por exemplo pastas de dente e enxaguatórios (bochechos) que contêm peróxido de hidrogênio (produto que clareia os dentes) em sua composição. Estes produtos se tornaram muito populares e acessíveis para os consumidores, porque eles apresentam baixo custo e fácil aplicação. A razão pela qual estamos fazendo esta pesquisa é saber se os enxaguatórios clareadores são melhores ou similares ao clareamento caseiro (clareamento com plaquinha) que é realizado com maior frequência.

Justificativa

É muito importante conhecer a eficácia e segurança dos enxaguatórios (bochechos) clareadores.

Tipo de pesquisa e intervenção

Esta pesquisa envolve a técnica de clareamento caseiro com plaquinha e gel clareador e enxaguatório clareador. Estes tratamentos deverão ser feitos em casa, mas haverá acompanhamentos de avaliações que serão feitas na clínica.

Seleção dos voluntários

Estamos convidando pacientes adultos com dentes de cor mais escuros ou mais amarelados e que querem que seus dentes fiquem mais brancos.

Descrição dos produtos clareadores

O agente clareador testado utilizado na pesquisa é o enxaguatório (bochecho) clareador Listerine Whitening Extreme (Peróxido de hidrogênio a 2,5% – agente que clareia o dente – em sua composição). É um produto que está aprovado para venda aos consumidores e foi testado previamente em vários estudos laboratoriais.

O enxaguatório (bochecho) Listerine Whitening Extreme é fabricado pela Johnson & Johnson. Alguns participantes receberão o clareamento caseiro como tratamento (clareamento com plaquinha e gel). O gel clareador (produto que você colocará dentro da plaquinha) será a base de peróxido de carbamida a 10%.

Procedimentos

A. Procedimentos prévios

Por não conhecermos se a eficácia do enxaguatório (bochecho) é melhor do que o clareamento convencional com plaquinha para o tratamento de dentes amarelos, é necessário compare-los. Para

isto, dividiremos os voluntários da pesquisa nos grupos. Os voluntários serão selecionados pela “sorte” nos grupos por meio de uma lista que será criada por um programa online.

Os pesquisadores acompanharão você cuidadosamente durante todo o estudo. Se você tiver qualquer dúvida ou dificuldade durante o estudo, você deve nos informar o mais rápido possível.

Adicionalmente, voluntários também serão selecionados para o grupo que receberá o placebo. Um placebo ou produto inativo (sem ação, no caso, clareadora) é um produto real, porém não terá a função de clarear os dentes.

B. Descrição do procedimento clareador

Durante a pesquisa, você precisará comparecer a 10 visitas na clínica.

- Na primeira visita, os dentes superiores e inferiores serão moldados com um material apropriado. Essa moldagem vai permitir que um modelo de gesso seja feito de cada arcada e um guia de silicone transparente também possa ser confeccionado. Este guia de silicone permitirá que o espectrofotômetro (aparelho que mede a cor dos dentes) seja posicionado no dente no momento da avaliação da cor dos dentes. Os pesquisadores também farão perguntas sobre o seu estado de saúde geral (anamnese). Nesta sessão, você receberá uma pasta de dente e uma escova de dente que deverão ser utilizados durante todo o período do estudo. Será feito também uma profilaxia nos seus dentes (limpeza) e você receberá as instruções de higiene.
- Numa próxima visita, que ocorrerá, aproximadamente, uma semana depois, você receberá os agentes clareadores e todas as instruções necessárias. Todas as informações também estarão escritas “Instruções aos Voluntários” que você receberá. Após isso, será verificada a cor dos seus dentes com escalas de cor e com um aparelho que mede a cor (espectrofotômetro) e também será aplicado um laser de diodo sobre seus dentes para avaliarmos o grau de mineralização dos seus dentes e termos esses dados iniciais previamente ao tratamento clareador para que possamos ter a comparação do efeito dos tratamentos.
- Após um dia, você voltará na clínica para que a sua gengiva seja avaliada e também seja verificado se você está sentindo sensibilidade. Isso será feito por meio de uma avaliação clínica.
- Após sete dias, você voltará novamente para que sua gengiva seja avaliada e a sensibilidade verificada.
- No 14º dia, a sensibilidade dental, gengiva e também a mineralização dos seus dentes serão avaliados. É importante lembrar que o tratamento clareador para os voluntários que fizeram clareamento com a plaquinha finaliza. E assim, a cor dos dentes será avaliada também.
- Após uma semana do término do tratamento (21 dias), a cor dos dentes será avaliada novamente.
- Após 30, 60, 90 e 97 dias a sensibilidade dental e condição da gengiva também serão avaliados e os grupos com enxaguatórios (bochechos) terão as outras avaliações (cor e mineralização).

Duração

O estudo durará 97 dias ou três meses e 7 dias no total. Durante esse tempo, será necessário que você compareça nas avaliações agendadas e essas avaliações durarão, no máximo, 20 minutos. Após a finalização de todos os tratamentos, nós gostaríamos de acompanhar o efeito clareador resultante do seu tratamento após seis meses do término do tratamento. Portanto, em todo esse período, você não poderá fazer nenhum tratamento clareador, restaurações nos dentes da frente ou qualquer outro procedimento que impeça que os pesquisadores verifiquem a cor dos dentes.

Efeitos adversos

Você poderá sentir sensibilidade ou irritação gengival. As moldeiras também poderão causar algum desconforto ou dificuldade em conversar. Se você sentir uma sensibilidade muito forte ou qualquer outro sinal de incomodo, contate-nos imediatamente.

Benefícios

Os resultados deste pesquisa contribuirá para melhorar o conhecimento nesta área da Ciência. Clinicamente, pacientes com descoloração dental podem ser beneficiados com os avanços da pesquisa. Voluntários serão beneficiados com a alteração de cor dos seus dentes (dentes mais claros).

Forma de acompanhamento e assistência

Todos os procedimentos serão acompanhados pelas pesquisadoras. Além disso, as mesmas oferecerão toda a assistência necessária durante a pesquisa.

Garantia de Sigilo da identidade do sujeito da pesquisa:

Os pesquisadores irão tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. As informações fornecidas e o material que indique a sua participação serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Nada será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no prontuário do participante, uma ficará de posse do pesquisador e uma terceira cópia será entregue ao participante.

Garantia de esclarecimentos, Liberdade de Recusa

Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. A sua participação é voluntária e você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento, sem nenhuma penalidade e sem prejuízos.

Custos da Participação, Ressarcimento ou indenização

A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

Contato

Se você tiver alguma dúvida, você pode nos perguntar agora ou mais tarde, até mesmo depois que o estudo tenha iniciado. Caso você queira perguntar alguma coisa mais tarde, você pode entrar em contato:

- Mariane Cintra Mailart:

Telefone: (12) 98133-0586

E-mail: mariane.cintra-mailart@unesp.br

- Professora Adjunta Alessandra Bühler Borges

Telefone: (12) 3947-9000.

E-mail: alessandra.buhler@unesp.br

Se você tiver qualquer dúvida sobre questões éticas da pesquisa, por favor, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPh) do Instituto de Ciência e Tecnologia - São José dos Campos (Av. Engenheiro Francisco José Longo, 777 – CEP: 12245-000 São José dos Campos – SP, Brasil. Telefone: (12) 3947-9076) e comunique-se com a Coordenadora Denise Nicodemo.

Após ter sido informado e ter minhas dúvidas suficientemente esclarecidas pela pesquisadora, declaro que concordo em participar de forma voluntária desta pesquisa. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Local – dia/mês/ano

Nome do participante

Assinatura

RG ou CPF

Nome do pesquisador

Assinatura

CRO/SP

APÊNDICE C - Calibração dos examinadores

Avaliação dos participantes não incluídos no estudo para a calibração dos examinadores.

Paciente		Avaliador 1 1ª Avaliação		Avaliador 2 1ª Avaliação		Avaliador 1 2ª Avaliação		Avaliador 2 2ª Avaliação	
		E.V.C.	E.V.B.	E.V.C.	E.V.B.	E.V.C.	E.V.B.	E.V.C.	E.V.B.
Dente 11	1	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M1,5	A1	1M1,5
	3	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5
	4	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5
	5	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2
Dente 13	1	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	3	A1	1,5M2	A1	1,5M2	A1	1,5M2	A1	1,5M2
	4	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2
	5	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
Dente 21	1	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M1,5	A1	1M1,5
	3	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5
	4	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5
	5	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2
Dente 23	1	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	3	A1	1,5M2	A1	1,5M2	A1	1,5M2	A1	1,5M2
	4	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2
	5	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
Dente 31	1	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M1,5	A1	1M1,5
	3	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5
	4	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5
	5	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2
Dente 33	1	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	3	A1	1,5M2	A1	1,5M2	A1	1,5M2	A1	1,5M2
	4	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2
	5	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
Dente 41	1	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M1,5	A1	1M1,5
	3	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5
	4	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5	B1	1M1,5
	5	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2
Dente 43	1	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2
	3	A1	1,5M2	A1	1,5M2	A1	1,5M2	A1	1,5M2
	4	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2	A1	1M2
	5	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2	A2	2,5M2

Fonte: Elaborado pelo autor.

APÊNDICE D – Validação do método objetivo (análise por espectrofotometria)

Os participantes que não receberam tratamento clareador tiveram o dente 11 avaliados por meio do espectrofotômetro clínico. Foram calculados os valores de ΔL , Δa , Δb e ΔE , referente à avaliação de 14, 30, 60, 90, 105 dias e após 2 anos de acompanhamento em relação à mensuração inicial. Essas avaliações tiveram o objetivo de se verificar o adequado funcionamento do espectrofotômetro durante o período do estudo.

Média e desvio-padrão dos valores obtidos com a validação do método objetivo

PARÂMETRO	T14	T30	T60	T90	T105	2 anos
ΔL	-0,0085±0,145	-0,0105±0,008	-0,0098±0,007	-0,0100±0,009	-0,0088±0,007	-0,0101±0,006
Δa	0,0068±0,001	0,0066±0,002	0,0067±0,002	0,0066±0,001	0,0071±0,003	0,0087±0,001
Δb	0,0025±0,007	0,0032±0,006	0,0030±0,005	0,0032±0,007	0,0027±0,007	0,0034±0,005
ΔE_{ab}	0,011±0,05	0,0043±0,001	0,0122±0,070	0,0124±0,022	0,0116±0,052	0,0877±0,013

Fonte: Elaborado pelo autor.

ANEXO A – Comprovante do parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

UNESP - INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS	UNESP - INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS																									
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP																										
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA Título da Pesquisa: Eficácia e segurança de enxaguatórios clareadores: estudo clínico controlado randomizado Pesquisador: Alessandra Buhler Borges Área Temática: Versão: 1 CAAE: 03513418.5.0000.0077 Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP Patrocinador Principal: Financiamento Próprio DADOS DO PARECER Número do Parecer: 3.073.105 Apresentação do Projeto: Trata-se de projeto de pesquisa adequadamente redigido e apresentado, contendo requisitos científicos de pesquisa de qualidade Objetivo da Pesquisa: O objetivo do estudo clínico randomizado é avaliar a eficácia e segurança do enxaguatório clareador à base de peróxido de hidrogênio a 2,5% Listerine Whitening Extreme, bem como a satisfação do paciente com o resultado clareador. Avaliação dos Riscos e Benefícios: Os riscos apresentados são coerentes e estão bem explicitados no projeto, TCLE e no formulário da Plataforma Brasil. Os benefícios são claros e justificam a pesquisa. Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: O projeto relata que seguirá as normas do CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials). Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Todos os Termos obrigatórios foram adequadamente apresentados e bem redigidos. A metodologia proposta segue padrões atuais de excelência e o delineamento experimental amostral apresentado foi embasado em cálculo amostral com variação de cálculos com dois desvios padrões, mostrando preocupação com a avaliação posterior dos resultados.	Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Projeto de pesquisa foi considerado aprovado quanto às exigências éticas. Considerações Finais a critério do CEP: O Colegiado acata o parecer do(a) Relator(a). O (a) pesquisador(a) irá receber e-mail da Secretaria do CEP-ICT-CAMPUS DE SJCAMPOS-UNESP, para envio de relatórios parciais/final, para não incorrer na penalidade de não o fazendo, em não ter novas submissões avaliada pelo Comitê de Ética, até que sane a pendência de envio do relatório, na forma de notificação através do sistema da Plataforma Brasil. Obs.: No site https://www2.ict.unesp.br – Sobre o ICT – Comissões e Comitês - Comitê de Ética Envolvendo Seres Humanos, encontrará o formulário para envio do Relatório parcial/final. Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados: <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Tipo Documento</th> <th>Arquivo</th> <th>Postagem</th> <th>Autor</th> <th>Situação</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Informações Básicas do Projeto</td> <td>PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1257530.pdf</td> <td>13/11/2018 15:53:02</td> <td></td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência</td> <td>TCLE.pdf</td> <td>13/11/2018 15:52:34</td> <td>Alessandra Buhler Borges</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Projeto Detalhado / Brochura</td> <td>Projeto.pdf</td> <td>13/11/2018 15:50:11</td> <td>Alessandra Buhler Borges</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Investigador / Folha de Rosto</td> <td>folhaderosto.pdf</td> <td>13/11/2018 15:49:53</td> <td>Alessandra Buhler Borges</td> <td>Aceito</td> </tr> </tbody> </table> Situação do Parecer: Aprovado Necessita Apreciação da CONEP: Não	Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação	Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1257530.pdf	13/11/2018 15:53:02		Aceito	TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	13/11/2018 15:52:34	Alessandra Buhler Borges	Aceito	Projeto Detalhado / Brochura	Projeto.pdf	13/11/2018 15:50:11	Alessandra Buhler Borges	Aceito	Investigador / Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	13/11/2018 15:49:53	Alessandra Buhler Borges	Aceito
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação																						
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1257530.pdf	13/11/2018 15:53:02		Aceito																						
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	13/11/2018 15:52:34	Alessandra Buhler Borges	Aceito																						
Projeto Detalhado / Brochura	Projeto.pdf	13/11/2018 15:50:11	Alessandra Buhler Borges	Aceito																						
Investigador / Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	13/11/2018 15:49:53	Alessandra Buhler Borges	Aceito																						
Endereço: Av Engº Francisco José Longo 777 Bairro: Jardim São Dimas UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: cep@ict.unesp.br	Endereço: Av Engº Francisco José Longo 777 Bairro: Jardim São Dimas UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: cep@ict.unesp.br																									
UNESP - INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS	UNESP - INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS																									
SAO JOSE DOS CAMPOS, 11 de Dezembro de 2018 Assinado por: Denise Nicodemo (Coordenador(a))																										
Endereço: Av Engº Francisco José Longo 777 Bairro: Jardim São Dimas UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: cep@ict.unesp.br	Endereço: Av Engº Francisco José Longo 777 Bairro: Jardim São Dimas UF: SP Município: SAO JOSE DOS CAMPOS Telefone: (12)3947-9078 Fax: (12)3947-9010 E-mail: cep@ict.unesp.br																									