

### ANA LUIZA BARBOSA JUREMA

EFICÁCIA DE AGENTES CLAREADORES DE VENDA LIVRE ASSOCIADOS OU NÃO AO CLAREAMENTO COM PERÓXIDO DE CARBAMIDA A 10%

#### **ANA LUIZA BARBOSA JUREMA**

# EFICÁCIA DE AGENTES CLAREADORES DE VENDA LIVRE ASSOCIADOS OU NÃO AO CLAREAMENTO COM PERÓXIDO DE CARBAMIDA A 10%

Dissertação apresentada do Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE pelo Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA RESTAURADORA, Área de Dentística.

Orientadora: Profa. Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele

São José dos Campos 2016 Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2016]. 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).

```
Jurema, Ana Luiza Barbosa
Eficácia de agentes clareadores de venda livre associados ou não ao clareamento com Peróxido de Carbamida a 10% / Ana Luiza Barbosa Jurema. - São José dos Campos : [s.n.], 2016.
82 f. : il.
```

Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora) - Pós-Graduação em Odontologia Restauradora - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2016.
Orientadora: Taciana Marco Ferraz Caneppele.

1. Clareamento dental. 2. Cremes dentais. 3. Antissépticos bucais. I. Caneppele, Taciana Marco Ferraz, 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. Dra. Taciana Marco Ferraz Caneppele (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

### Prof. Adj. Eduardo Bresciani

Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

### Profa. Dra. Michele Baffi Diniz

Universidade Cruzeiro do Sul (UNICSUL)
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Campus de São Paulo

São José dos Campos, 13 de dezembro de 2016

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a meus pais que desde sempre me apoiaram e me incentivaram em minhas escolhas. Minha mãe **Eneida Márcia Barbosa Jurema**, que me inspira como mulher, batalhadora e educadora e meu pai **Manoel Ricardo Jurema** que me inspira como cirurgião-dentista, sonhador e escritor.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre me deu força, coragem e amor para vencer todos os obstáculos e que continuará me direcionando e guiando meus passos.

Aos meus pais, Eneida e Manoel, por todo amor, por nunca medirem esforços para me verem feliz, sempre estiveram ao meu lado em tudo o que precisei, contribuindo para meu crescimento em todas as áreas de minha vida.

Aos meus irmãos Maria Carolina Barbosa Jurema e Lucas José Barbosa Jurema pela parceria de sempre, por serem minha alegria de todos os dias e por me entenderem e me acolherem sempre que foi necessário.

À minha orientadora Taciana Marco Ferraz Caneppele que me acolheu com muita atenção, dedicação e paciência, que é responsável pelo grande crescimento que obtive nesses anos de mestrado e que é uma inspiração como professora e pesquisadora a qual levarei para vida toda.

Ao meu querido Tainã de Paula Oliveira, que esteve me apoiando e incentivando durante todos os momentos com muito amor e paciência.

À aluna de graduação Evaniele Santos Claudino, pelo convívio, pela companhia e por toda ajuda na etapa laboratorial deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Odontologia Restauradora que contribuíram imensamente com minha formação durante o curso com todo conhecimento e experiência que puderam dividir comigo.

Aos professores Eduardo Bresciani e Michele Baffi Diniz que aceitaram o convite para participar da banca examinadora de minha defesa.

Às funcionárias Josiana, Fernanda e Liliane por todo

auxílio, disponibilidade, alegria e atenção que demonstraram durante todo o curso.

A todos os colegas da pós-graduação, em especial aos meus amigos Maurício, Mariane e Rafael pelo convívio e por fazer esses dois anos parecerem mais tranquilos e agradáveis.

A todos os funcionários do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos que promoveram meu bom aproveitamento nesses dois anos de mestrado.

Minha gratidão a todos que contribuíram de alguma forma para meu crescimento profissional e pessoal durante todas as etapas deste curso.

# SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Manchamento dentário	13
2.2 Clareamento dental	16
2.3 Agentes clareadores de venda livre	17
2.3.1 Dentifrícios clareadores	19
2.3.1.1 Dentifrícios abrasivos	19
2.3.1.2 Dentifrícios com peróxido de hidrogênio	21
2.3.1.3 Dentifrícios com clareadores ópticos	23
2.3.2 Enxaguatórios clareadores	26
2.4 Estudo de cor, fluorescência e dureza	29
3 PROPOSIÇÃO	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Dentes	33
4.1.1 Preparo dos espécimes	33
4.1.2 Embutimento dos espécimes	35
4.1.3 Escurecimento dos espécimes	37
4.2 Divisão dos Grupos	37
4.3 Delineamento experimental	39
4.4 Mensuração de cor	44
4.5 Mensuração de fluorescência	45
4.6 Mensuração de microdureza	46
4.7 Planejamento estatístico	47
4.7.1 Hipóteses: a associação de agentes clareadores de venda livre dur	ante
o clareamento caseiro não interfere na eficácia clareadora e o uso	dos
agentes não são capazes de manter o clareamento obtido pelo Peroxid	o de
Carhamida a 10%	48

4.7.2 Hipótese: não há diferença no efeito clareador entre os produtos de
venda livre testados48
4.7.3 Hipótese: os agentes clareadores de venda livre não são capazes de
produzir efeito clareador diferente do clareamento caseiro49
5 RESULTADO50
5.1 Hipóteses: a associação de agentes clareadores de venda livre durante o
clareamento caseiro não interfere na eficácia clareadora e o uso dos
agentes não são capazes de manter o clareamento obtido pelo Peroxido de
Carbamida a 10%50
5.1.1 Cor50
5.1.2 Fluorescência56
5.1.3 Dureza59
5.2 Hipótese: não há diferença no efeito clareador entre os produtos de
venda livre testados60
5.2.1 Cor60
5.2.2 Fluorescência63
5.2.3 Dureza65
5.3 Hipótese: os agentes clareadores de venda livre não são capazes de
produzir efeito clareador diferente do clareamento caseiro66
6 DISCUSSÃO68
7 CONCLUSÃO75
REFERÊNCIAS76

Jurema ALB. Eficácia de agentes clareadores de venda livre associados ou não ao clareamento com Peróxido de Carbamida a 10% [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2016

#### **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi avaliar a cor, fluorescência, e microdureza de agentes clareadores de venda livre associados ou não ao clareamento com Peróxido de Carbamida a 10% (PC10%) e comparar sua eficácia ao do clareamento caseiro com gel de PC10%. Duzentos e dez espécimes de esmalte e dentina foram obtidos a partir de incisivos bovinos e manchados em caldo de manchamento durante 14 dias. Foram randomizados em dois grupos, um deles foi clareado previamente com Peróxido de Carbamida a 10% (PC) e o outro não. Cada grupo foi subdividido em 7 subgrupos de acordo com o produto (n = 15): PC-Lis e Lis- enxaguatório clareador (Listerine Whitening); PC-AG e AG - água deionizada; PC-E e E- escovação mecânica. PC-EConv e EConv - creme dental convencional (Colgate Total Clean Mint); PC-EPerox e EPerox (Colgate Luminous White Advanced); PC-EAbras e EAbras (Oral-B 3D White Luxe); e PC-EOpt e EOpt (Close Up Diamond Attraction) dentifrícios clareadores. O grupo clareado com PC10% foi submetido a 14 dias de ciclos diários de clareamento caseiro associado aos tratamentos com agentes de venda livre. Após isso, todos os subgrupos passaram por ciclos de escovação ou enxágue durante 12 semanas. As medidas de cor, fluorescência e microdureza foram realizadas após o manchamento, após o clareamento com PC10% e após as 12 semanas dos tratamentos com os agentes clareadores de venda livre. Os dados de cor foram analisados pelo teste de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey de comparações múltiplas. Para fluorescência e microdureza foi utilizado o teste Tukey no grupo clareado com PC10%, e teste t-pareado para o outro grupo. Na comparação dos produtos com o PC10%, foi utilizado o teste de Dunnet. Para o grupo clareado com PC10% os resultados foram: valores do ΔEab\* e Δb\* foram semelhantes após o clareamento com PC10%, após 12 semanas PC-Lis e PC-AG apresentaram os menores valores de ∆Eab\* e PC-Lis, PC-AG e PC-E apresentaram maiores valores de Δb; A fluorescência aumentou para todos os grupos e após 12 semanas, diminuiu significativamente para PC-AG e PC-E. Para a dureza não houve diferenças estatísticas entre os subgrupos. Para o grupo não clareado com PC10%: Lis, EConv, EPerox, EOpt, e EAbras apresentaram valores negativos para Δb, mostrando eficácia clareadora significantemente maior que AG e E; após 12 semanas a microdureza do subgrupo EConv aumentou; a fluorescência aumentou para Lis, EConv, EPerox, EAbras e EOpt. Nenhum dos agentes clareadores de venda livre apresentou valores semelhantes ao clareamento com PC10%. Pode-se concluir que todos dentifrícios testados são capazes de manter o clareamento obtido pelo PC10%, já o enxaguatório não teve a mesma eficácia. Quando não associados ao clareamento com PC10% os agentes clareadores de venda livre promovem efeito clareador similar, mas não promovem o mesmo efeito do PC10%.

Palavras-chave: Clareamento Dental. Cremes Dentais. Antissépticos Bucais.

Jurema ALB. Efficacy of over-the-counter whitening products associated with 10 % carbamide peroxide home-bleaching [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2016.

#### **ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate color change, fluorescence and microhardness of different over-the-counter (OTC) whitening products, and to compare them with 10% carbamide peroxide (10%CP) gel. Two hundreds and ten enamel-dentin specimens were obtained from bovine incisors and stained in staining broth for 14 days, then randomly divided into 2 groups, one of them was bleached with 10%CP and the other was not bleached. Each group was divided into 7 subgroups according to type of product (n = 15): PC-Lis and Lis- whitening mouth rinse (Listerine Whitening); PC-AG and AG - deionized water; PC-E and E- mechanical brushing. PC-EConv and EConv - conventional dentifrice (Colgate Total Clean Mint): PC-EPerox and EPerox (Colgate Luminous White Advanced); PC-EAbras and Eabras (Oral-B 3D White Luxe); and PC-EOpt and EOpt (Close Up Diamond Attraction) whitening dentifrices. Bleached groups were submitted to daily cycles of at-home bleaching associated with OTC whitening products. Then, all subgroups were submitted to cycles of whitening of OTC whitening products. Color, fluorescence and microhardness were measured after staining and after bleaching with 10%CP and after 12 weeks of whitening treatment with OTC products. Color data was submitted for analysis of variance and Tukey's test for multiple comparisons, for microhardness and fluorescence. Tukey's test was used for bleached groups and paired t-test was used for non-bleached group. In comparison of OTC whitening agents with 10%CP bleaching was used Dunnet's test. Results for bleached group:  $\Delta Eab^*$  and  $\Delta b^*$  values was similar after 10%CP bleaching; after 12 weeks PC-Lis e PC-AG presented lower values of  $\Delta Eab^*$  and PC-Lis, PC-AG and PC-E presented lower values of  $\Delta b^*$ ; fluorescence increased for all groups after 10%CP treatment and after 12 weeks, decreased significantly for PC-AG and PC-E. For microhardness there were not statistical differences between subgroups. For non-bleached group: Lis, EConv, EPerox, EOpt, and EAbras presented negative ∆b\* values, showing bleaching efficacy significantly higher than AG and E. After 12 weeks EConv microhardness values was increased and fluorescence was increased for Lis, EConv, EPerox, EAbras and EOpt. None of the OTC agents presented a whitening effect similar to 10%CP. It is concluded that all dentifrices tested were able to preserve bleaching obtained with 10%CP, the mouth rinse did not present the same efficacy. When they were not associated with 10%CP, they promoted a similar whitening effect. Despite this, OTC whitening agents did not present a similar whitening effect compared to athome bleaching with 10%CP.

Keywords: Tooth Bleaching. Toothpastes. Mouthwashes.

# 1 INTRODUÇÃO

A valorização da estética dental leva à busca crescente por melhorias para o sorriso e é comprovado que o reestabelecimento da aparência e harmonia da cor dos dentes oferece um efeito positivo na autoestima e qualidade de vida do paciente. Portanto, os profissionais devem ser capazes de atender às necessidades destes pacientes para a obtenção de um efeito visual agradável através do tratamento de manchas e escurecimento dos dentes, que na maioria das vezes é a queixa principal apresentadas aos profissionais (Johnston, Kao, 1989).

A aparência do dente resulta da combinação de propriedades ópticas relacionadas com a absorção e dispersão da luz pelas estruturas do esmalte e da dentina. Manchamentos de origem extrínseca podem ocorrer devido ao consumo de alimentos ricos em corantes, como o café, chá, vinho, laranja ou cenoura, por exemplo. Também podem ser promovidos pelo acúmulo de biofilme e cálculo em áreas menos acessíveis às pastas e escovas dentais, hábito de fumar, uso de substâncias como a clorexidina ou que contém sais de metal, como ferro ou estanho e alguns medicamentos. (Joiner et al., 1995; Dahl, Pallesen, 2003; Sulieman et al., 2005; Joiner, 2006a).

As manchas extrínsecas podem ser removidas por tratamentos como a profilaxia profissional ou raspagem ou instrumentos próprios para isso. Porém, pode ainda haver escurecimento perceptível nos dentes, então, parte-se para técnicas de clareamento dental, cuja ação envolve a penetração de algumas moléculas na estrutura dental, resultantes de reações químicas do agente clareador na superfície do dente, que atua no colapso dos pigmentos causadores do escurecimento dental (Joiner et al., 2008a; Torres et al., 2010).

O agente mais utilizado para o clareamento de dentes polpados é o peróxido de hidrogênio, que pode ser encontrado em diversas concentrações de acordo com a técnica de clareamento (em consultório ou caseira). Para o clareamento em consultório é utilizado o peróxido de hidrogênio em altas concentrações (15 a 38%). Essa técnica traz resultados visíveis em um curto período, podendo até ser imediato. No clareamento caseiro utilizam-se concentrações mais baixas de peróxido de hidrogênio (3 a 10%) ou também, peróxido de carbamida (10 a 22%). É

supervisionado pelo profissional, porém é realizado pelo próprio paciente, que deve fazer aplicações do gel com duração orientada pelo profissional num período de 2 a 3 semanas, dependendo das reavaliações feitas pelo dentista. (Leonard et al., 1998; Dahl, Pallesen, 2003).

A longevidade do tratamento clareador é importante e embora resultados favoráveis tenham sido observados após 47 meses (Leonard Jr et al., 2001) a recidiva do escurecimento dos dentes ao longo do tempo pode ocorrer, dependendo dos hábitos alimentares dos pacientes. Ainda assim, na maioria dos casos os dentes não retornam a coloração que o dente apresentava antes do clareamento (Swift et al., 1999; Meireles et al., 2009).

Com o intuito de aumentar a acessibilidade dos pacientes a tratamentos clareadores menos onerosos e que prometem eficácia em um curto período de tempo, o mercado lança produtos clareadores de venda livre, que não precisam de prescrição nem acompanhamento dos profissionais como enxaguatórios e cremes dentais. Os enxaguatórios clareadores possuem em sua formulação baixas concentrações de peróxido de hidrogênio (de 1 a 2%). Os cremes dentais também sofreram modificações para que, além de promoverem uma limpeza dos dentes pelo auxílio na remoção do biofilme dental, estes produtos também possam remover e controlar manchas. Isto é possível pela incorporação de abrasivos, que promovem o polimento e remoção de uma fina camada mais superficial do esmalte dental que pode apresentar manchamento, adição de peróxido de hidrogênio em suas formulações que penetram e atuam nos cromógenos da estrutura dental ou ainda, alguns produtos contêm clareadores ópticos, que são corantes que se depositam sobre os dentes e podem resultar em um aumento na percepção de clareamento.

A eficácia clareadora de agentes clareadores de venda livre é controversa. Alguns autores observaram ação clareadora destes produtos, porém na maioria deles, os resultados foram inferiores aos obtidos pelo clareamento convencional (Jaime et al., 2014; Soares et al., 2014; Torres et al., 2014; Dantas et al., 2015; Karadas, Duymus, 2015).

Ainda que seja crescente o número de estudos que avaliem os enxaguatórios e creme dentais clareadores, há necessidade de mais informações sobre novos mecanismos de clareamento dos produtos de venda livre (como o clareador óptico), sobre a comparação entre diferentes mecanismos de clareamento

de pastas e enxaguatórios, bem como a associação desses agentes clareadores de venda livre ao clareamento caseiro e suas influências sobre a superfície do esmalte, sua cor e fluorescência para auxiliar os cirurgiões-dentistas na orientação e indicação de enxaguatórios e cremes dentais clareadores com segurança.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

A elaboração desta revisão da literatura teve por objetivo abordar algumas das mais relevantes pesquisas que antecederam este estudo, as quais serão apresentadas nos seguintes tópicos:

- 2.1 Manchamento dentário
- 2.2 Clareamento dentário
- 2.3. Agentes clareadores de venda livre
- 2.3.1 Dentifrícios clareadores
- 2.3.2 Enxaguatórios clareadores
- 2.4 Estudo de cor, fluorescência e dureza

#### 2.1 Manchamento dentário

A coloração do dente resulta da combinação de propriedades ópticas relacionadas com a absorção e dispersão da luz pelo esmalte e dentina. O manchamento dentário pode ser causado por inúmeros fatores que alteram a coloração normal dos dentes, os quais podem ser classificados de acordo com a sua origem em intrínsecos ou extrínsecos, sendo que o escurecimento do dente também pode ser resultado da associação dos dois tipos de fatores.

Os fatores intrínsecos podem ocorrer pela alteração da composição da estrutura dos tecidos dentários causadas principalmente por doenças metabólicas, fatores sistêmicos e defeitos locais de tecidos causados durante o desenvolvimento da dentição, tendo como consequência a alteração de cor (Watts, Addy, 2001).

Os fatores extrínsecos podem ser diversos, como o acúmulo de biofilme na em áreas que são menos acessíveis às pastas e escovas dentais, pigmentação de alimentos ricos em corantes (como o café, chá, vinho, laranja ou cenoura), hábito de fumar, uso de substâncias como a clorexidina ou que contém sais de metal, como ferro ou estanho (Joiner et al., 1995; Sulieman et al., 2005; Joiner, 2006a; 2006b).

Muitos autores desenvolvem trabalhos relacionados ao clareamento dental que utilizam técnicas de escurecimento dos espécimes para simular o manchamento de origem extrínseca, principalmente por pigmentos alimentícios para avaliar a eficácia de tratamentos clareadores após os ciclos de manchamento.

Stookey et al. (1982) preconizou um método de manchamento extrínseco em esmalte para estudos que avaliam dentifrícios ou escovas dentais. No estudo foram utilizados blocos de esmalte bovino embutidos em resina acrílica autopolimerizável com a superfície de esmalte exposta. Foram acomodado em um dispositivo para facilitar seu posicionamento e manipulação, foram polidos com lixas de granulação 100 e 600 sob constante refrigeração de água. Em seguida, foram condicionados com ácido hidro clorídrico durante 60 s para facilitar a aderência e a incorporação de pigmentos. Depois de lavados, eles foram tratados por um aparato de manchamento e proporciona imersão alternada em um ambiente de manchamento e secagem com ar em 37°C. O caldo de manchamento utilizado consistiu em: café instantâneo, chá instantâneo, mucina gástrica, solução estéril de tripticase de soja, cultura da bactéria *Sarcina lutea turtox*. Esse procedimento fornece a adsorção de pigmentos na superfície do esmalte promovendo o manchamento extrínseco e a possibilidade de avaliação da eficácia de dentifrícios e escovas dentais que tem a função de auxiliar a remoção dessas manchas.

Freccia e colaboradores (1982), desenvolveram uma técnica para escurecimento de dentes extraídos com pigmentos sanguíneos para estudar técnicas de clareamento para dentes não vitais. Dez dentes foram imersos na solução de manchamento e colocadas na centrífuga 10 min e concluíram que a técnica de manchamento é válida tanto para propósitos educacionais, como para pesquisas.

Em um estudo realizado por Sulieman e colaboradores (2003), objetivou-se desenvolver um método padronizado e reproduzível de escurecimento de espécimes dentários. Para isso desenvolveram uma solução de chá (*Marks and Spencer's Extra Strong tea, Marks and Spencer*, Londres, Inglaterra) com água destilada em que os espécimes foram submersos e submetidos a diversos tratamentos clareadores, o que levou aos autores concluírem que além de estar de acordo com relatos clínicos anteriores, o modelo de manchamento pode ser usado em estudos com diferentes agentes clareadores. A mesma solução foi utilizada posteriormente por Sulieman et

al. (2005), que desenvolveram um estudo *in vitro* em 24 coroas de dentes anteriores, que foram imersas na solução de chá durante 24 h, para quantificar a penetração de peróxido de hidrogênio a 35% em esmalte e dentina.

Em um trabalho de Moore et al. (2008), avaliou-se o efeito de duas gomas clareadoras de nicotina, comparadas com gomas de mascar clareadoras convencionais e com a saliva humana. Para o manchamento prévio em incisivos bovinos, foi utilizado um caldo contendo café instantâneo, chá instantâneo, mucina gástrica, caldo tripticase de soja com *Micrococcus luteus*, bactéria que acelera a formação de manchas extrínsecas no esmalte. Os espécimes ficaram em contato com o caldo, que era trocado diariamente, durante dez dias consecutivos.

A American Dental Association (2008) preconizou métodos para testar agentes clareadores em laboratório, indicando o manchamento dos espécimes de esmalte para avaliar a eficácia do clareamento. O caldo de manchamento utilizado, adaptado do caldo proposto por Wozniak et al. (1991), contém café instantâneo, chá preto, mucina gástrica, corante vermelho número 40, corante amarelo número 5, caldo de cultura de *Micrococcus luteus* e vinho tinto. Recomenda-se a imersão dos espécimes no caldo durante 14 dias, pois foi comprovado que a cor do esmalte não é alterada se o período de imersão aumentar.

Alaghemand e colaboradores (2015) realizaram um estudo para avaliar o efeito de uma caseína durante o clareamento de espécimes de esmalte na susceptibilidade ao escurecimento no período do tratamento clareador. Os espécimes foram clareados em duas sessões com Peróxido de Hidrogênio a 40%, em três aplicações de 20 min em cada sessão. Depois disso foram armazenados em saliva artificial seguida da imersão em uma solução de chá (*Lipton Yellow Label Tea*, Londres, Inglaterra) durante 10 min para manchar os espécimes.

Bhutani et al., (2016) utilizaram uma solução de café instantâneo para o escurecimento das amostras. Com o objetivo de avaliar diferentes métodos de ativação do peróxido de hidrogênio durante o clareamento, trinta coroas de dentes humanos extraídos foram seccionadas e imersas numa solução de 200 ml de café (Nescafe Classic), durante sete dias em meio livre de bactérias e com a temperatura de 37°C.

#### 2.2 Clareamento dental

Para remoção de manchas extrínsecas pode-se optar por tratamentos como a raspagem ou profilaxia, utilizando produtos abrasivos. Se ainda houver escurecimento perceptível nos dentes após a remoção de manchamentos extrínsecos, parte-se para as técnicas de clareamento dental. Existem as técnicas de clareamento externo, que pode ser o clareamento caseiro, em que, sob orientação e supervisão do profissional, o paciente faz o uso do agente clareador em casa, e o clareamento de consultório, o qual é realizado em ambiente clínico. Para dentes não vitais, existe a técnica de clareamento interno, em que o agente clareador é aplicado na região da câmara pulpar (Joiner, 2006b; Joiner et al., 2008a).

Para rever o conhecimento atual sobre a definição do clareamento dos dentes e sua aplicação em Odontologia, em conjunto com a gama de medições de cores de dentes, Joiner et al.(2008a), realizaram uma revisão de literatura sobre cor dental e clareamento. A partir desta, concluiu-se que a aplicação da ciência da cor dentro da Odontologia tem permitido a mensuração da cor do dente, de forma objetiva, com o espaço de cor mais comum em uso atual sendo o CIE L\*a\*b\* (Commission Internationale de l'Eclairage). De fato, muitos pesquisadores têm relatado o uso do Sistema L\*a\*b\* para a medição da cor dos dentes, utilizando técnicas instrumentais, como colorímetros, espectrofotômetros e análise de imagens digitais. Em geral, estes estudos demonstram uma grande variação em L\*, a\* e b\*, mas consistentemente mostram que existe uma contribuição significativa do valor de b \* no amarelamento ou na cor do dente natural.

O agente clareador mais utilizado no clareamento dental por ação química é o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), que pode ser encontrado sob a forma de peróxido de hidrogênio diretamente ou de peróxido de carbamida (que em contato com água, libera partículas de  $H_2O_2$ ) (Carey, 2014).

O peróxido de hidrogênio é uma molécula instável e quando entra em contato com a estrutura dental ou com a matéria orgânica sofre uma sequência de reações ocasionando sua dissociação. Em seu processo de dissociação, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> libera radicais livres que interagem entre si e sobre a matéria orgânica resultando,

após a completa reação, em moléculas de água (H<sub>2</sub>O). Os radicais livres liberados pela reação H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> possuem elétrons desemparelhados que se unem com moléculas de cromógenos (que promovem a coloração do dente), quebrando suas ligações e tornando as cadeias menores, numa reação de óxido-redução, o que gera o efeito óptico de clareamento, pois diminuem a absorção da luz dessas estruturas. Alguns fatores podem influenciar a reação, entre eles a temperatura, presença de sais de metal, a luz incidente e o pH (Hardman et al., 1985; Torres et al., 2010, 2014).

O peróxido de hidrogênio ou de carbamida podem ser encontrados em diferentes concentrações, dependendo da técnica de clareamento. Para o clareamento de consultório, concentrações mais altas de peróxido de hidrogênio são utilizadas e para o clareamento caseiro, o agente mais utilizado é o peróxido de carbamida em concentrações mais baixas (10% a 22%).

Desde os estudos de Haywood e Heymann (1989), muitos estudos clínicos e *in vitro* demostram que o clareamento com o peróxido de carbamida a 10% é um método seguro e eficaz para o paciente. Por ter uma concentração menor de peróxido de hidrogênio, gera menos sensibilidade nos dentes e a duração é maior quando comparado às técnicas de clareamento de consultório, necessitando de um tempo maior para manutenção do tratamento. O produto também não apresenta citotoxidade nem danos aos tecidos bucais, além disso, não apresenta danos à estrutura de restaurações de resinas compostas e em sua interface com a estrutura dentária (Tam, 1999; Goo et al., 2004; Berga Caballero et al., 2007; Grobler et al., 2011; de Almeida et al., 2015).

#### 2.3. Agentes clareadores de venda livre

Os agentes clareadores de venda livre são produtos disponíveis atualmente no mercado que visam o clareamento dental por métodos alternativos, como a escovação e o bochecho. Esses métodos de clareamento não requerem a prescrição ou acompanhamento de algum profissional, se tornando mais acessíveis tanto pela técnica empregada quanto pelo valor dos produtos. Atualmente, existem muitos estudos sobre estes produtos com a finalidade de ajudar os profissionais a

indicarem o melhor tratamento aos seus pacientes e comprovar a eficácia e segurança dos mesmos.

Demarco e colaboradores (2009) fizeram uma revisão de literatura sobre os produtos clareadores dentais de venda livre considerando que o escurecimento dos dentes é uma situação comumente encontrada na clínica odontológica e que o clareamento dental tem sido considerado a alternativa estética preferida, por ser mais conservador, seguro e com resultados previsíveis. A técnica de clareamento caseiro supervisionado peróxido de carbamida a 10% com moldeiras personalizadas é o procedimento mais comum oferecido aos pacientes. E os bons resultados obtidos com esta técnica estimularam o desenvolvimento de novos produtos e novas técnicas. Os produtos de venda livre apareceram como uma alternativa de baixo custo para o clareamento sem a supervisão do dentista. Diferentes produtos estão disponíveis em supermercados, farmácias ou na Internet, incluindo enxaguatórios, escovas, cremes dentais, gomas de mascar, fios dentais, tiras clareadoras, entre outros. Segundo os autores, há falta de evidência clínica em relação à segurança e eficácia destes produtos, sendo a maior parte dos estudos patrocinados pelos fabricantes. Basicamente, dentifrícios, gomas de mascar, e fios dentais são agentes de remoção de manchas superficiais. Enxaguatórios e dentifrícios com baixos níveis de peróxido de hidrogénio têm um efeito de clareamento, mas sem relevância clínica. As tiras de clareamento apresentam resultados estéticos e efeitos colaterais semelhantes ao clareamento caseiro com peróxido de carbamida a 10%. Entretanto, grande parte dos estudos tem o apoio financeiro dos fabricantes e foram baseados em avaliações de curto período de tempo. A legislação sobre a venda livre destes produtos varia amplamente em diferentes países. Preocupações surgiram devido ao uso abusivo desses agentes, especialmente em pacientes jovens, com possíveis resultados prejudiciais. Os dentistas devem estar familiarizados com este o tipo de produtos para serem capazes de informar seus pacientes. Por fim, os autores concluíram que existe uma necessidade de ensaios clínicos independentes para proporcionar suficiente evidência sobre o uso destes produtos clareadores.

#### 2.3.1 Dentifrícios clareadores

Para auxiliar no tratamento de clareamento com o peróxido de hidrogênio ou como alternativa de clareamento dental, o mercado odontológico apresenta aos consumidores dentifrícios que objetivam clarear a estrutura dentária. Os dentifrícios de venda livre apresentam diferentes mecanismos de clareamento.

#### 2.3.1.1 Dentifrícios abrasivos

Alguns cremes dentais possuem em sua composição, abrasivos que fornecem a remoção do biofilme dental e desgaste superficial do esmalte que apresenta maior grau de manchamento. Esses dentifrícios mostram efeito clareador por abrasão. Existem diversos estudos que mostram o efeito clareador e a ação dos abrasivos no esmalte dental.

Patil et al. (2015) buscaram comparar a eficácia da ação enzimática e abrasiva de dentifrícios clareadores na remoção de manchas extrínsecas do esmalte dental. Um dos cremes dentais tem em sua composição sais abrasivos como o carbonato de cálcio e o outro contém um componente enzimático (papaína e bromelina). Este foi um estudo triplo cego randomizado, o qual contou com a participação de 90 indivíduos de 18 a 40 anos que foram divididos em dois grupos (n= 45), sendo que em um deles utilizou-se o dentifrício com ação enzimática e no outro, dentifrício clareador com ação abrasiva. Os participantes foram instruídos a escovar os dentes duas vezes ao dia (pela manhã e a noite) durante um mês. Após esse período, os dados foram coletados para a avaliação da eficácia dos produtos. Depois os participantes foram instruídos a utilizarem dentifrícios convencionais e novamente após um mês coletou-se dados para avaliar a prevenção de manchas extrínsecas. Os resultados demonstraram que as reduções nos escores totais de manchas com ambas as pastas foram significativas em comparação com pontuação das manchas iniciais e ambos os cremes dentais. No entanto, a pasta de ação enzimática mostrou melhores resultados do que a pasta de ação abrasiva.

Considerando que o clareamento pode ocasionar alterações morfológicas e químicas na superfície do esmalte, Attia e colaboradores (2015), realizaram um experimento que teve como objetivo avaliar a rugosidade superficial e possíveis mudanças no esmalte de dentes que passaram por diferentes protocolos de clareamento e escovação utilizando diferentes dentifrícios clareadores. Para tal estudo, foram confeccionados blocos de esmalte e distribuídos aleatoriamente em nove grupos (n = 10) de acordo com o tratamento clareador: sem clareamento (grupo de controle); Peróxido de hidrogênio a 6%, (PH); ou peróxido de carbamida 10%, (PC) e de acordo com o creme dental utilizado: placebo (PL); um dentifrício com abrasividade considerada regular (R); e um dentifrício clareador contendo sais altamente abrasivos, (W). O clareamento foi realizado de acordo com as instruções dos fabricantes e todos os grupos foram submetidos a 30.000 ciclos de escovação simulada com creme dental (PL, R ou W). A avaliação da estrutura do esmalte foi avaliada inicialmente (T1), depois do clareamento (T2), e após a escovação (T3), utilizando um espectrômetro de fluorescência de micro energia dispersiva de raios-X e perfilometria. Os resultados mostram que a rugosidade do esmalte foi influenciada pelo clareamento e escovação. A rugosidade superficial aumentou para os grupos escovados com dentifrício placebo (PC + PL, PH + PL, Controle + PL) e para o grupo controle que escovado com dentifrício clareador (C + W). A proporção Ca/P do esmalte diminuiu após o clareamento, mas a escovação, independentemente do dentifrício utilizado, não reduziu o conteúdo mineral do esmalte. O clareamento resultou em uma diminuição do conteúdo mineral do esmalte, mas os dentifrícios estudados não contribuíram para a perda de mineral da superfície.

Young et al. (2015), realizaram um estudo clínico randomizado para avaliar a eficácia na remoção de manchas extrínsecas por dentifrícios clareadores com diferentes graus de abrasividade. Cento e quarenta e dois pacientes foram divididos em quatro grupos de acordo com os diferentes dentifrícios utilizados, entre eles, uma pasta de dente dessensibilizante com abrasividade ultrabaixa, um dentifrício com baixa abrasividade, outro com moderada abrasividade e por fim um dentifrício clareador com alta abrasividade. O grau de manchamento foi avaliado antes, após quatro e oito semanas do período de escovação. Após as análises estatísticas dos resultados, concluiu-se que todos os dentifrícios reduziram o manchamento extrínseco dos dentes e todos os grupos tiveram desempenhos semelhantes.

#### 2.3.1.2 Dentifrícios com peróxido de hidrogênio

Alguns dentifrícios clareadores têm em sua formulação a presença de peróxido de hidrogênio, que pode ser encontrado em diferentes concentrações.

Meyers et al. (2000), avaliaram clinicamente três dentífricos comercialmente disponíveis para determinar os eventuais efeitos sobre a superfície do dente ou gengiva adjacentes. Selecionaram sessenta e quatro participantes que foram alocados aleatoriamente para um dos quatro grupos de tratamento, a seguir: Grupo 1 - escovação com água; Grupo 2 - Colgate (Baking Soda and Peroxide); Grupo 3 -Macleans (Whitening); Grupo 4 - Colgate (Sensation Whitening). Foi orientado para que todos os participantes escovassem pela manhã e à noite de maneira habitual usando somente o creme dental designado, ou a água, por quatro semanas. Todos os participantes foram instruídos a usar o mesmo tipo de escova de dente. Nenhum outro produto de higiene oral, tais como enxaguatório bucal ou fio dental foram utilizados durante o período experimental. Antes do início do período de escovação, foi feito um exame clínico completo e o registro do estado dos tecidos moles e duros, incluindo um índice gengival (LOE e Silness) para condição gengival. Uma moldagem dos dentes anteriores com polivinilsiloxano foi feita no início do experimento. Depois de quatro semanas, um segundo exame clínico completo foi feito e outra moldagem de silicone foi realizada dos dentes anteriores. Todos os modelos foram confeccionados com resina epóxi para a investigação com microscopia eletrônica e óptica. Os participantes também responderam a um questionário relacionado ao dentifrício utilizado. Os resultados indicaram que nenhuma diferença clínica significativa foi encontrada para qualquer dentifrício ou água e não foi significativa a diferença de escores do índice. As respostas dos pacientes a cada dentifrício variaram de acordo com as preferências individuais dos pacientes e de suas expectativas. As microscopias óptica e eletrônica indicaram que a superfície dos dentes e as alterações gengivais que ocorreram durante o período de quatro semanas com ambos os dentífricos foram semelhantes, e não apresentaram diferenças. Estes resultados levaram os autores à conclusão de que nenhum dos dentifrícios testados foi prejudicial para os dentes e tecidos moles adjacentes.

Com o objetivo de determinar a efetividade e segurança de novos dentifrícios na remoção de manchas extrínsecas e clareamento dos dentes, Ghassemi et al. (2012) , realizaram um estudo clínico controlado, no qual 140 indivíduos foram randomizados em dois grupos, um utilizando uma pasta com peróxido de hidrogênio (*Arm & Hammer Advance White Extreme Whitening Baking Soda and Peroxide Toothpaste*) e o outro grupo controle utilizou dentifrício convencional. Foram orientados a escovar os dentes duas vezes ao dia com suas respectivas pastas durante seis semanas. A escala Vita Clássica foi utilizada para avaliar as alterações de cor após a quarta e após a sexta semana, após a análise dos dados, concluíram que durante o tratamento com o creme dental clareador, é possível clarear e prevenir o escurecimento dos dentes e seu efeito persiste ao cessar o uso do mesmo.

Alshara e colaboradores (2014) investigaram o mecanismo de ação e o efeito do clareamento através de dentifrícios clareadores. Foram confeccionados 256 espécimes de dentes (10 x 10 mm²), os quais foram parcialmente manchados e divididos em oito grupos (n = 32): seis dentifrícios clareadores de diversas marcas comerciais, um dentifrício convencional e água deionizada (controle negativo) e foram ainda divididos em dois subgrupos (n = 16), de acordo com o teste: ação química (apenas o uso de dentifrício contendo peróxido de hidrogênio) ou por ação quimicomecânica (dentifrício e escovação). As amostras foram tratadas com suspensões dos dentifrícios dois vezes por dia durante 1 min e escovadas ou não, de acordo com cada subgrupo. Durante os tratamentos, as amostras foram artificialmente manchadas durante 5 h. Este protocolo foi repetido durante cinco dias e as alterações de cor do esmalte (ΔEab) foram medidos ao final de cada dia. No subgrupo de ação quimicomecânica, foi observada a ação de todos os dentifrícios após o primeiro dia, sendo maior do que o grupo de controle negativo (p <0,05). A partir do segundo dia foram observadas alterações não significativas na cor para todos os grupos (p> 0,05). Foram observadas diferenças de ΔEab\* entre os dentifrícios. Pela ação química, não se constataram diferenças significativas entre os grupos (p> 0,05), com \( \Delta \text{Eab}^\* \) mantendo-se constante durante todo o estudo. Os valores mais elevados de ΔEab\* foram observados no clareamento por ação quimicomecânica (p <0,05). Assim, pode-se concluir que todos os dentifrícios testados foram eficazes no clareamento do esmalte manchado e a escovação é determinante para a ação clareadora dos agentes.

Um estudo *in vitro* em 2014 (Soares et al., 2014).buscou avaliar a eficácia de pastas clareadoras em superfície de esmalte, as quais foram expostas e manchadas em uma solução de chá preto durante 60 min por 15 vezes. Sessenta amostras foram divididas em cinco grupos (n = 12), dois grupos utilizaram pastas de dente com agentes clareadores em sua formulação (*Colgate Luminous White* e *Colgate Optic White*), um grupo utilizou dentifrícios clareadores abrasivos (*Crest 3D White, Procter & Gamble*) e dois grupos controles, um com dentifrício convencional e outro utilizando água destilada. A comparação da cor das amostras foi realizada por meio de fotos de antes e depois do tratamento com as pastas. Após as análises das fotos no programa *Adobe Photoshop*, não foi observada diferenças significantes entre os três grupos os quais utilizaram dentifrícios clareadores, porém concluiu-se que estes grupos apresentaram maior grau de clareamento do que os grupos controles

Horn et al. (2014), através de um ensaio clínico randomizado avaliaram o efeito de diferentes agentes clareadores. Para isso 60 pacientes foram randomizados em quatro grupos (n = 15) de acordo com o dentifrício utilizado, entre eles: *Colgate Total 12, Close-up White Now, Oral-B 3D White* e *Colgate Luminous White*. A orientação foi que realizassem três escovações por dia com os respectivos dentifrícios durante 2 a 3 min, em um período de 15 dias. As cores dos dentes foram avaliadas antes e após o tratamento, através do Espectrofotômetro (*Vita EasyShade* - CIE L\*a\*b\*). De acordo com os critérios *National Bureau of Standards*, nenhuma alteração de cor foi aparente, mas os valores de L\* aumentaram significativamente no grupo em que se utilizou o dentifrício *Colgate Luminous White*, com peróxido de hidrogênio em sua formulação.

#### 2.3.1.3 Dentifrícios com clareadores ópticos

Além dos dentifrícios com abrasivos para remoção de manchas superficiais e dos com base de peróxido de hidrogênio para clarear intrinsecamente os dentes, existe uma nova abordagem de efeito clareador nos dentes considerando as

propriedades ópticas dentais. É possível conferir um efeito óptico de branqueamento na superfície dental com a deposição de *blue covarine*, um composto presente atualmente em dentifrícios dentais clareadores.

Joiner et al. (2008b), investigaram um novo conceito de clareamento dentário com materiais contendo pigmentação azul que se depositam na superfície do dente. Amostras de esmalte dentário foram utilizadas para a avaliação, submetendo-se a tratamentos com diferentes corantes e pigmentos azuis. A cor inicial foi medida com colorímetro no modo CIE L\*a\*b\*. Os dentes foram tratados com bochechos de 30 s de b*lue covarine* com água destilada, depois do bochecho, a cor foi avaliada através do colorímetro e da escala de cor Vita Clássica sob iluminação controlada (D65). A mudança de cor também foi avaliada após a escovação por 1 min com pasta de dente com *blue covarine* em sua formulação. Os autores concluíram que a deposição de *blue covarine* sob a superfície de esmalte pode ser um método para clareamento dental. Seu modo de ativação depende da quantidade e do local onde o pigmento azul é depositado, o que pode alterar as propriedades ópticas do dente dando o efeito óptico clareador.

Em um estudo em 2009, foi descrito o mecanismo da ação clareadora da blue covarine. A cor pode ser expressa em três coordenadas: L\*, a\* e b\*, sendo que L\* representa a luminosidade, a\* e b\* representam a variação de vermelho-verde e amarelo-azul, respectivamente. Nos dentes, é comprovado que a coordenada b\* tem grande influência para gerar o efeito clareador com a diminuição da pigmentação amarela e o aumento da quantidade de pigmentação azul. Essa pigmentação azul pode ser encontrada na blue covarine, um pigmento que pode ser incorporado à dentifrícios, que seria a forma de agente mais acessível e de maior utilização pelas pessoas. Ao fazer parte da composição de dentifrícios, quando depositada sobre a superfície do esmalte durante a escovação, modifica tanto as propriedades ópticas do dente, quanto sua aparência, dando um efeito óptico de clareamento. Esse efeito se mostrou imediato, porém temporário (Joiner, 2009).

Joiner (2010) realizou uma revisão de literatura sobre cremes dentais clareadores que contem agentes clareadores em sua formulação, observando seus mecanismos de ação, eficácia e métodos de estudos in vitro e clínicos para avaliação desses produtos. Observou-se que devido à busca do paciente por alternativas de melhorar a cor dos dentes o mercado desenvolveu uma gama de

dentifrícios clareadores de diversas formas de ação. Em seu levantamento bibliográfico, ele concluiu que a forma de clareamento mais utilizada é através da abrasão, ou seja, a incorporação de abrasivos nos dentifrícios para a remoção de manchas extrínsecas e a prevenção de futuras alterações de cor sem a alteração da estrutura dental. Além dos abrasivos, os dentifrícios contêm agentes projetados para clareamento, como peróxido, citrato. intensificar enzimas. hexametafosfato, ou agentes ópticos, como blue covarine. Segundo o autor, os métodos in vitro utilizados para avaliar a eficácia de clareamento do dente geralmente determina a capacidade de uma formulação de pasta de dentes para remover e prevenir o manchamento extrínseco no esmalte ou hidroxiapatita e até mesmo mudanças na cor intrínseca dos dentes. A maioria dos estudos utilizam alguns protocolos clínicos para avaliar a ação de cremes dentais clareadores na remoção de manchas extrínsecas em dentes naturais ou também após submetidos a manchamentos induzidos e são realizados em um período de 2 a 6 semanas. Em alguns estudos clínicos a alteração da cor do dente foi medida utilizando técnicas com o auxílio da Escala Vita Clássica, colorímetros e análise de imagens de fotografias digitais dos dentes.

Dantas e colaboradores (2015) compararam o efeito de um creme dental contendo blue covarine (Close Up White Now - Unilever Brasil, São Paulo, SP, Brasil) com os agentes clareadores convencionais em técnicas de clareamento de consultório e caseiro. Os espécimes de esmalte de dentes bovinos foram randomizados em cinco grupos (n = 15) de acordo com a técnica clareadora: Clareamento caseiro com peróxido de hidrogênio 10% (Whiteness Perfect - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil); clareamento de consultório com peróxido de hidrogênio a 35% (Whiteness HP - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil), escovação com dentifrício contendo blue covarine (Close Up White Now - Unilever Brasil, São Paulo, SP, Brasil), escovação com dentifrício clareador sem blue covarine (Colgate MaxWhite - Colgate Palmolive Brasil, São Paulo, SP, Brasil) e o grupo controle que não recebeu nenhum tipo de tratamento. As leituras de cor foram feitas com o espectrofotômetro de reflectância (Vita EasyShade - Vident, Brea, CA, EUA) antes dos tratamentos, imediatamente depois, 7, 14 e 21 dias depois da conclusão dos tratamentos. Após as análises, os autores concluíram que o uso dos dois tipos de pastas clareadoras é menos eficaz que as

técnicas de clareamento com gel de peróxido de hidrogênio. A pasta com o pigmento azul não apresenta melhores resultados no clareamento do que as pastas clareadoras convencionais e ambas as pastas clareadoras não foram mais eficazes que o grupo controle.

Bortolatto et al. (2016) realizaram um estudo para analisar o efeito de duas pastas de dente clareadoras, uma convencional e a outra com *blue covarine* em sua composição em dentes clareados previamente com técnicas de clareamento caseiro e de consultório. Foram preparados blocos de dentes bovinos e distribuídos em seis grupos de acordo com as técnicas de clareamento (caseiro ou de consultório) e os dentifrícios clareadores utilizados (nenhum, controle, com *blue covarine* ou sem *blue covarine*). Após o clareamento dos espécimes com as diferentes técnicas, iniciaramse os ciclos de escovação com a máquina de escovação por 3 min. As leituras de cor foram feitas através do espectrofotômetro de reflectância (*Vita EasyShade, Vident, Brea*, CA, USA) após o clareamento, imediatamente após as escovações, 7 e 14 dias após as escovações. As pastas convencionais e com *blue covarine* não demonstraram eficácia no clareamento de dentes clareados previamente.

#### 2.3.2 Enxaguatórios clareadores

Lima e colaboradores (2012) fizeram um estudo *in vitro* com o objetivo de avaliar o efeito do clareamento de dois enxaguatórios bucais contendo peróxido de hidrogênio em suas composições. Para isso foram selecionados trinta pré-molares humanos recém-extraídos foram aleatoriamente divididos em dois grupos (n = 15): *Listerine Whitening* (LW), cuja concentração de peróxido de hidrogênio é de 2% e *Colgate Plax Whitening* (PW), com peróxido de hidrogênio a 1,5%. Os valores de pH foram 5.6 e 3.4 para LW e PW, respectivamente. Os dentes foram fixados numa placa de cera e com resina acrílica, a uma distância de 5 mm entre si. Todos os dentes foram armazenados em saliva artificial, durante 45 dias, sendo trocadas duas vezes por dia para imersão no enxaguatório durante 1 min, seguido por 10 s de lavagem na água da torneira. Foram realizadas tomadas fotográficas sob condições padronizadas dos dentes para registrar a cor de cada dente. Estas imagens foram

cortadas em áreas previamente demarcadas e analisadas no programa  $Adobe\ Photoshop\ 7.0\ usando\ o\ espaço\ de\ cor\ CIEL*a*b*.\ Depois dos\ 45 dias de tratamento, não houve diferença estatística entre os grupos LW e PW para a coordenada a* (p = 0,5) ou b* (p = 0,6). O grupo LW apresentou um aumento em luminosidade (L *) (p = 0,03), e o grupo PW teve uma diminuição no parâmetro L* (p= 0,02). Estas diferenças foram estatisticamente significativas entre os grupos (p=0,01). Uma diminuição do avermelhado (a*) foi observada para PW (p <0,01) e ambos os grupos mostraram uma diminuição de tom amarelado (p <0,01). Apesar da mudança de cor dos dois grupos (<math>\Delta$ Eab), o grupo LW apresentou valores mais elevados do que o PW (p = 0,01). Assim, os autores concluíram que ambos os produtos causaram um grau de clareamento, mas o  $Colgate\ Plax\ Whitening\ causa\ a\ diminuição\ da\ luminosidade, que pode\ ser\ devido\ ao\ seu\ pH\ mais\ baixo.$ 

Torres et al. (2013), fizeram um estudo no qual questionaram se o uso de enxaguatórios e dentifrícios bucais clareadores poderiam resultar numa eficácia semelhante ao do clareamento caseiro com peróxido de carbamida a 10%. Para tal estudo foram confeccionados 120 espécimes cilíndricos a partir de incisivos bovinos, que foram manchados por 24 h em uma solução de café. A mensuração da cor foi realizada por um espectrofotómetro usando o sistema CIE L\*a\*b\*, e os espécimes foram divididos em seis grupos de acordo com a utilização dos seguintes agentes: grupo 1, dentifrício fluoretado convencional; grupo 2, Close-Up White Now; grupo 3, Listerine Whitening; grupo 4, Colgate Plax Whitening; grupo 5: enxaguatório experimental com Plasdone; e grupo 6, Peróxido de Carbamida 10% Whiteness Perfect. Após a simulação de 12 semanas de tratamento para os grupos 1 a 5 e 14 dias para o grupo de tratamento com peróxido de carbamida a 10%, os espécimes foram submetidos a uma nova leitura de cor. Os dados coletados mostraram diferenças significativas entre os grupos após 12 semanas para a ΔEab, revelando que os grupos 3, 4 e 6 apresentaram significativamente maior alteração de cor do que os grupos 1, 2 e 5. Deste estudo, foi concluído que o clareamento com Close Up White Now e o enxaguatório mostraram alteração de cor semelhante ao grupo que utilizou pasta de dente convencional após 12 semanas de simulação de tratamento. Estes grupos apresentaram significativamente menor alteração de cor em comparação com enxaguatórios bucais Listerine Whitening e Colgate Plax Whitening, que mostraram resultados semelhantes aos observados após 14 dias de clareamento com peróxido de carbamida a 10%.

Um estudo in vitro feito em 2015 avaliou o efeito do clareamento de quatro diferentes produtos de venda livre em comparação com o clareamento com gel de peróxido de carbamida a 10%. Foram feitas amostras obtidas a partir de incisivos bovinos que foram submetidas a um manchamento induzido em solução de chá e aleatoriamente divididos em seis grupos de acordo com o produto utilizado (n = 10): CT: dentifrício convencional (controle negativo); CWT: dentifrício Crest 3D White; CWR: enxaguatório Crest 3D White; CWS: Tiras Crest 3D White; DW: Dazzling White (pintura em gel); e OP: 10% PF Opalescence CP (gel clareador caseiro, controle positivo). Os produtos clareadores e o gel clareador caseiro foram utilizados de acordo com as recomendações do fabricante. Medições de cor foram realizadas de acordo com o sistema CIEL\*a\*b\* utilizando um espectrofotômetro, após o manchamento, e após 4 e 8 semanas do tratamento. Os dados obtidos foram analisados por ANOVA de medidas repetidas. O teste de Tukey foi realizado para comparações múltiplas (p <0,05). Todos os grupos, com exceção do CWT, foram eficazes no clareamento dental em comparação com o grupo do dentífrico convencional. Não houve diferença significativa no clareamento dental entre CWT e CT. Os grupos CWS, DW e OP apresentaram alterações de cor significativamente mais elevadas do que o grupo CWR. Os grupos DW e CWS se mostraram semelhantes ao OP (Karadas, Duymus, 2015).

Majeed et al. (2015), realizaram um estudo para avaliar a real concentração de peróxido de hidrogênio em diferentes marcas comerciais de produtos clareadores, entre eles géis, pastas e enxaguatório clareadores. A concentração foi medida através do método de titulação de oxirredução. Os resultados levaram os autores à conclusão de que as concentrações da maioria dos agentes que contém peróxido de hidrogênio em sua composição não são de fato as concentrações esperadas, porém as alterações são pequenas.

Potgieter et al. (2014) tiveram como objetivo determinar o efeito de diversos enxaguatórios bucais na dureza do esmalte. Fragmentos de esmalte foram divididos em 3 grupos (n = 15). Em cada grupo o esmalte foi exposto a um enxaguatório clareador. Um deles foi o *Colgate Plax Whitening Blancheur*, o outro *White Glo 2 in* 1 e o terceiro grupo foi exposto ao *Plus White*. Cada grupo foi exposto ao seu

respectivo enxaguatório com o período determinado pelas recomendações dos fabricantes. A microdureza foi mensurada antes dos tratamentos e 14 dias após. Os autores observaram que o *Colgate Plax* e *White Glo*, diminuíram a dureza do esmalte significativamente em relação ao *Plus White*. Os três enxaguatórios não causaram danos à superfície do esmalte utilizando as recomendações do fabricante.

Jaime e colaboradores (2014) analisaram a eficácia do enxaguatório *Colgate Plax Whitening* que contém 1,5% de peróxido de hidrogênio em sua composição. Para tal estudo, 30 fragmentos de esmalte foram obtidos de superfícies proximais de terceiros molares humanos e submetidos ao manchamento com corante laranja (*Orange II methyl*). Os espécimes foram divididos em 3 grupos de acordo com o tipo de agente clareador aplicado: Peróxido de Carbamida 10% (controle positivo), enxaguatório clareador com peróxido de hidrogênio a 1,5% e saliva artificial (controle negativo). Os espécimes foram fotografados antes e depois do manchamento, depois dos ciclos clareadores e 28 dias após os tratamentos. As fotografias foram analisadas com um software que utiliza o sistema CIE L\*a\*b\* para obtenção dos valores das coordenadas L\* a\* e b\*. Após as análises dos dados obtidos, pode-se concluir que os enxaguatórios que contém peróxido de hidrogênio em sua composição são capazes de clarear dentes manchados, porém o grau de clareamento ainda é menor que a técnica de clareamento com o gel de peróxido de Carbamida a 10%.

#### 2.4 Estudo de cor, fluorescência e dureza

A cor dos dentes pode ser expressa por um valor numérico. A organização internacional dedicada à luz e cor, Commission Internationale de L'Eclairage, (CIE) desenvolve métodos para medir esse valor numérico e o mais utilizado nas pesquisas sobre diferença de cor é a fórmula CIE-L\*a\*b\* (Konica Minolta Inc., 1998). A coordenada L\* indica a luminosidade do objeto e as coordenadas a\* e b\* indicam a cromaticidade. Entre dois objetos podemos obter a diferença entre essas coordenadas ( $\Delta$ L\*,  $\Delta$ a\*,  $\Delta$ b\*), que derivam fórmulas que expressam numericamente a diferença de cor entre dois objetos (Seghi et al., 1989). Essas três coordenadas

estão dentro do espaço de cor CIE L\*a\*b\* que tem como base três receptores de cor dos olhos humanos (vermelho, verde e azul). O valor da coordenada L\* varia de zero a 100, sendo estes o preto perfeito e o branco total, respectivamente, e representa a luminosidade. A coordenada a\* varia do avermelhado (a\* positivo) ao esverdeado (a\* negativo). A coordenada b\* varia do amarelado (b\* positivo) para o azulado (b\* negativo). Para cores mais neutras, os valores são mais próximos de zero e aumentam para cores mais saturadas. A vantagem desse sistema é que a diferença de cor expressa numericamente pode ser confirmada pela percepção visual com significância clínica (Joiner, 2004a). Existem equipamentos capazes de medir essas coordenadas e calcular a diferença de cores entre os objetos, entre eles, temos o espectrofotômetro que pode ler a cor de um objeto e proporcionar alta precisão na capacidade de medir cores de forma absoluta.

A fluorescência é uma propriedade óptica importante no resultado final da percepção da cor dental. É a capacidade do objeto de emitir luz em um comprimento de onda maior que o excitou. A fluorescência dental foi estudada pela primeira vez em 1928 (Benedict, 1928), que observou que diante de luz azul, a dentina apresenta maior brilho que o esmalte e que a fluorescência diminui diante da atividade de cárie e da desmineralização em meios ácidos. Acredita-se que essa propriedade está associada com a porção orgânica da dentina. A mesma, quando estimulada com luz U.V. emite uma luz brilhante azul (Foreman, 1980). O comportamento da fluorescência dos minerais presentes na estrutura dental é ainda muito complexo e acredita-se que as alterações dessa propriedade estão associadas com a alteração ultra estrutural e física dos dentes. Mudanças na fluorescência dos tecidos dentais podem também influenciar na percepção do clareamento, isso pode contribuir para o entendimento do mecanismo de clareamento dental (Götz et al., 2007). Essa propriedade pode ser mensurada através de alguns equipamentos como o espectrofotômetro de reflectância ou espectrofotômetros de fluorescência.

A dureza do esmalte é uma propriedade relacionada à quantidade de minerais presentes nessa estrutura. Quando ocorre o processo de desresmineralização do esmalte diante do contato de sua superfície com substâncias de diferentes valores de pH, substâncias mais ácidas podem ocasionar a perda de mineral do esmalte, e substâncias que contenham componentes remineralizantes (como o fluoreto de sódio) em sua composição podem contribuir para a

remineralização do mesmo, podendo alterar sua dureza (Salomão et al., 2014). Dentifrícios que contém abrasivos em sua composição associados à mudança do pH do meio em que se encontra o esmalte dental também podem alterar a dureza do esmalte (Kaur et al., 2015). O uso de géis clareadores pode alterar a dureza superficial do esmalte, tanto pelos diferentes valores de pH que eles apresentam, quanto pelo fato de promoverem a oxidação dessa superfície (Ghanbarzadeh et al., 2015; Moosavi, Darvishzadeh, 2016). Por esses motivos, há a preocupação em avaliar a influência de dentifrícios e enxaguatórios clareadores na dureza do esmalte, pois podem alterar sua superfície tanto pela presença de peróxido de hidrogênio (Joiner et al, 2004c), abrasivos e por conta da associação com o tratamento clareador com o Peróxido de Carbamida 10%.

# 3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi comparar a eficácia clareadora de agentes clareadores de venda livre (dentifrícios e enxaguatório) associados ou não ao clareamento com Peróxido de Carbamida a 10%. E também avaliar a influência destes tratamentos na fluorescência e dureza do esmalte. As hipóteses de nulidade testadas foram:

- a) a associação de agentes clareadores de venda livre durante o clareamento caseiro não interfere na eficácia clareadora, na fluorescência e dureza do esmalte;
- b) os agentes clareadores de venda livre não alteram o resultado clareador obtido pelo Peroxido de Carbamida a 10%;
- c) não há diferença no efeito clareador, fluorescência e dureza entre os produtos de venda livre testados;
- d) os agentes clareadores de venda livre não são capazes de produzir efeito clareador diferente do clareamento caseiro.

# **4 MATERIAL E MÉTODOS**

#### 4.1 Dentes

Foram utilizados 210 incisivos bovinos obtidos de animais recém abatidos.

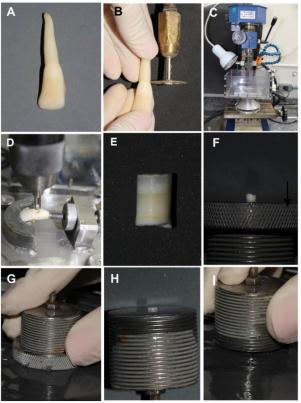
## 4.1.1 Preparo dos espécimes

Os dentes tiveram suas raízes seccionadas com disco de carborundum montado em mandril. Foram utilizadas apenas as coroas, que foram submetidas à cortadora de amostras circulares, a fim de se obter amostras circulares de 3 mm de diâmetro, expondo, assim, o limite amelodentinário. Para isso, uma broca tipo trefina de 3 mm de diâmetro interno com a ponta revestida de diamante (FN Moraes, São José dos Campos, SP, Brasil) foi acoplada à cortadora de amostras. Para padronização da espessura dos espécimes, utilizou-se um dispositivo metálico, com orifício para posicionamento do espécime, que permite o ajuste da profundidade. A amostra removida do dente bovino foi colocada no orifício com a dentina correspondente à câmara pulpar voltada para cima. Girando-se o parafuso central na porção inferior, o limite amelodentinário foi alinhado com a superfície, então, colocou-se um anel delimitador de desgaste com 1mm de espessura, levando-se a amostra à politriz circular com lixa 600 (Fepa-P, Extec, Enfield, CT, USA), obtendo-se exatamente 1 mm de dentina plana.

Após esta etapa, o espécime foi invertido no dispositivo, de modo que o esmalte ficou voltado para a parte externa. O orifício foi ajustado para 2,1 mm de profundidade, utilizando-se um paquímetro digital (*Starret*, Itu, SP, Brasil). Esse dispositivo foi submetido à ação de uma lixa d'água de granulação 1200 (Fepa-P, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), acoplada a uma politriz circular (DP-10, Panambra, São Paulo, SP, Brasil), e todo o excedente de esmalte foi desgastado, obtendo-se um espécime com 1,1 mm de esmalte e 1 mm de dentina. Os espécimes

foram imersos em água deionizada e lavados com banho de ultrassom por 10 min (*Ultrasonic cleaner*, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) para a remoção de todos os resíduos. A Figura 1 mostra a sequência de corte dos dentes até a obtenção do cilindro de 2,1 mm de esmalte e dentina.

Figura 1 - Corte e polimento dos dentes



Legenda: a) dente bovino utilizado; b) secção da raiz com disco de carborundum em mandril; c) cortadora de amostras circulares; d) dente posicionado em cortadora e broca trefina; e) cilindro de esmalte e dentina de 3 mm de diâmetro; f) dispositivo metálico para padronização do corte da dentina com o anel delimitador posicionado; g) remoção de dentina excedente com lixa na politriz; h) remoção do anel delimitador e padronização de espessura do esmalte; i) remoção de esmalte excedente.

Fonte: Elaborado pelo autor.

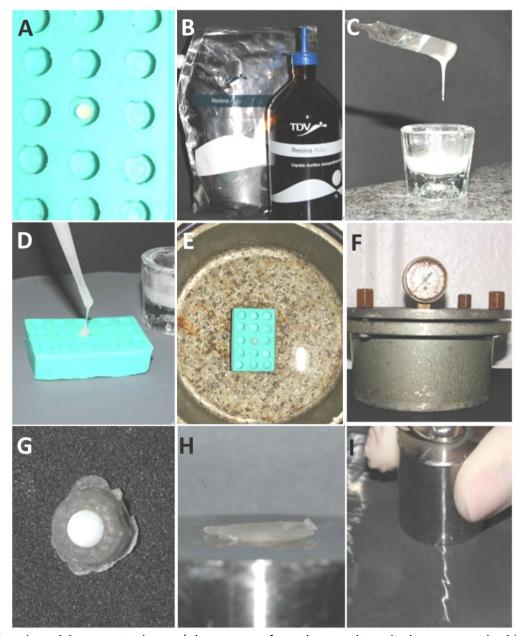
### 4.1.2 Embutimento dos espécimes

Na sequência, para expor apenas a superfície do esmalte dos espécimes, foi realizado o embutimento dos mesmos. As amostras de esmalte e dentina foram inseridas em uma matriz de silicone com 6 mm de diâmetro e 3,1 mm de profundidade. No fundo da matriz há uma cavidade em um segundo nível com 3 mm de diâmetro e 0,1 mm de profundidade. Os espécimes foram posicionados no interior dessa cavidade interna com a superfície do esmalte voltada para o fundo do molde. O molde, então, foi preenchido com resina acrílica auto polimerizável transparente (Jet, Clássico artigos odontológicos LTDA, Campo Limpo Paulista, São Paulo, Brasil) e levado a uma polimerizadora de resina acrílica (*City* máquinas equipamentos para prótese e materiais, Guarulhos, São Paulo, Brasil), imerso em água e submetido a uma pressão de 30 psi até a total polimerização, desta forma, evitando bolhas no interior na resina acrílica devido à pressão, proporcionando uma superfície com menor número de defeitos. Assim, foram obtidos espécimes de esmalte embutidos em resina acrílica, com a exposição de uma área padronizada do esmalte.

Os espécimes foram posicionados em outro dispositivo de metal, com um orifício central (6 mm de diâmetro), cuja profundidade foi ajustada em 3 mm. A amostra foi posicionada com a face de esmalte voltada para a superfície externa do dispositivo, com o intuito de realizar a planificação e polimento do esmalte. O conjunto (disco/dente) foi posicionado sobre a plataforma giratória da politriz para a realização da planificação do esmalte, permitindo o paralelismo entre as superfícies polidas e a base de metal na qual foram fixados os espécimes. Para tal, foram utilizadas lixas de carbeto de silício de granulação 2400 e 4000, sob refrigeração com água durante 120 s.

Entre as trocas de lixas, os espécimes foram levados em ultrassom (Ultrasonic Cleaner, Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil), durante 5 min, com água deionizada (200 ml), a fim de que fossem removidos resíduos de grãos de abrasivo que pudessem interferir na lisura do tecido. Após o último polimento, os espécimes retornaram ao ultrassom durante 5 min para a limpeza final. A Figura 2 mostra a sequência para o embutimento dos espécimes.

Figura 2 - Embutimento dos espécimes



Legenda: a) posicionamento do espécime com a face do esmalte voltada para matriz; b) resina acrílica utilizada para embutimento dos espécimes; c) consistência ideal da resina acrílica para inclusão na matriz; d) deposição da resina com auxílio de pipeta Pasteur; e) colocação da matriz na panela de pressão para remoção de bolhas; f) panela de pressão fechada; g) espécime após embutimento; h) colocação do espécime em dispositivo metálico para remoção de excessos; i) remoção de excesso e padronização da altura do espécime com lixas na politriz. Fonte: Elaborado pelo autor.

### 4.1.3 Escurecimento dos espécimes

Os espécimes, após serem embutidos em resina acrílica, foram escurecidos com o caldo de manchamento adaptado da norma da *American Dental Association* (2008) para pesquisas de clareamento dental. Foi composto de 1,5 g de café instantâneo, 1,5 g de chá instantâneo, 0,33 ml de corante vermelho n.40, 0,33 ml de corante amarelo n.5, e 41,6 ml de vinho tinto. Os espécimes foram submetidos a 14 dias de manchamento. Após o manchamento a superfície do esmalte foi polida novamente com lixa de carbeto de silício de granulação 4000 sob refrigeração com água durante 120 s. Após isso, foram realizadas leituras de cor, fluorescência e microdureza iniciais.

### 4.2 Divisão dos grupos

Os espécimes foram divididos em dois grupos (n = 105), sendo que um deles foi submetido ao clareamento com peróxido de carbamida a 10% (Opalescence 10%, Ultradent) e o outro grupo não foi submetido ao clareamento. Posteriormente, cada grupo foi subdividido em sete subgrupos (n = 15) de acordo com o tratamento de agentes clareadores de venda livre, descritos abaixo:

- a) PC-Lis e Lis: enxaguatório clareador com peróxido de hidrogênio em sua formulação (Listerine Whitening - Johnson&Johnson, São José dos Campos, SP);
- b) Controle Água (PC-AG e AG): os espécimes foram imersos em água destilada pelo mesmo tempo que o enxaguatório clareador;
- c) Controle Escovação Convencional (PC-E e E): os espécimes foram submetidos à escovação mecânica sem dentifrício (Escova Oral-B Cross Action Power Whitening, Procter & Gamble);
- d) Controle Escovação Convencional (PC-E e EConv): os espécimes foram submetidos à escovação com dentifrício convencional (Colgate

- Total Clean Mint Colgate-Palmolive Ind. E Com. Ltda, São Paulo, SP, Brasil);
- e) PC-EPerox e EPerox: dentifrício que contém peróxido de hidrogênio em sua formulação (Colgate Luminous White – Colgate-Palmolive Ind. E Com. Ltda, São Paulo, SP, Brasil);
- f) PC-EAbras e EAbras: dentifrício que tem como princípio clareador a remoção de manchas superficiais através de abrasivos (Oral-B 3D White Luxe - Procter & Gamble);
- g) PC-EOpt e EOpt: dentifrício com efeito óptico clareador contendo blue covarine (Close Up Diamond Attraction Power White Unilever Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil).

O Quadro 1 mostra todos os produtos utilizados nesse estudo, incluindo o fabricante e os seus componentes. A Figura 3 mostra a divisão dos grupos e subgrupos.

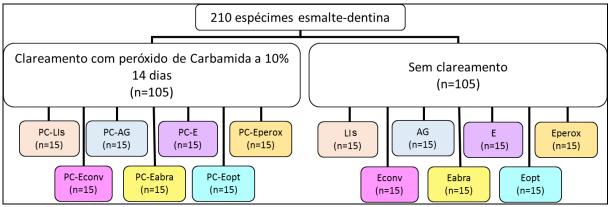


Figura 3 - Divisão dos grupos

Quadro 1 – Produtos, fabricantes e seus componentes

Subgrupo	Produto	Fabricante	Componentes
СР	Opalescence	Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA	Peróxido de Carbamida a 10%, nitrato de potássio, fluoreto de sódio (1100 ppm de Flúor)
Lis	Listerine Whitening	KIK Custom Products, Etocicoke, Canadá	Água, álcool a 8%, peróxido de hidrogênio a 2%, sódio fosfato, poloxâmero 407, sódio laurel sulfato, citrato de sódio, aroma de menta, mentol, eucaliptol, sacarina de sódio, sucralose
Conv	Colgate Total Clean Mint	Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, SP, Brasil	Água, sílica hidratada, sódio laurel fosfato, PVM/MA copolímero, aroma, carrageenan, hidróxido de sódio, triclosan, sacarina de sódio, CI 77891, limonene, fluoreto de sódio (1450 ppm de Flúor)
Perox	Colgate Luminous White	Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, SP, Brasil	Peróxido de hidrogênio a 1%, propileno glicol, cálcio pirofosfato, glicerina, PEG / PPG-116 / copolímero 66 PEG-12, sílica, aroma, tetrasódio pirofosfato, sódio lauril sulfato, disódio pirofosfato, monofluorofosfato de sódio (1000 ppm de Flúor)
Abras	Oral-B 3D White Luxe	Procter & Gamble Manufacturing GMBH, Gross-Geraud, Alemanha	Água, sílica hidratada, sorbitol, disódio pirofosfato, sódio lauril sulfato, hidróxido de sódio, aroma, goma de celulose, sacarina de sódio, carbomero, goma xantana, CI 77891, limonene, mica, linalol, glicerina, CI 74160, fluoreto de sódio (1450 ppm de Flúor)
Opt	Close Up Diamond Attraction	Unilever, Ipojuca, PE, Brasil	Água, sílica hidratada, sorbitol, PEG- 32, sódio lauril sulfato, aroma, mica, goma de celulose, sacarina de sódio, trisódio fosfato, pvm/ma copolímero, fluoreto de sódio (1450 ppm de Flúor)

# 4.3 Delineamento experimental

Após sua confecção, embutimento em resina acrílica e manchamento, os espécimes tiveram sua cor, fluorescência e dureza avaliadas nos períodos: após o manchamento (LI), 24 h após o clareamento (LC) e após o tratamento em 12 semanas (L12). Para a leitura final (L12) aguardou-se um período de 24 h após o ciclo clareamento-manchamento.

As amostras foram distribuídas aleatoriamente em sete subgrupos que foram

submetidos ao gel clareador caseiro e outros sete subgrupos que não passaram por esse processo. Durante o período de manchamento, clareamento e ciclos de escovação e bochechos os espécimes foram colocados em matrizes de silicone que os separaram em subgrupos, mantiveram a superfície do esmalte voltada para cima e facilitaram o manuseio durante os ciclos de escovação e bochechos. Os espécimes receberam aplicação de peróxido de carbamida a 10% Whiteness Perfect 10% - FGM, Joinville, SC, Brasil) por 8h, Em seguida, foram lavados em água deionizada, mantidos 5 min no caldo de escurecimento, foram escovados ou enxaguados com seus respectivos tratamentos, e depois, mantidos em saliva artificial até completar 24 h da aplicação do gel clareador. Este processo foi repetido 14 vezes. Após os 14 dias de associação ao clareamento do peróxido de hidrogênio a 10%, iniciaram-se os ciclos de escovação e enxágue com os agentes clareadores de venda livre para os grupos clareados e não clareados. Todos os subgrupos foram mantidos 5 min no caldo de escurecimento, lavados com água deionizada, em seguida foram tratados com escovações o enxágue conforme cada subgrupo, lavados novamente com água deionizada e depois, permaneceram na saliva artificial até completar 24 h das escovações ou enxágues.

Os tratamentos específicos de cada subgrupo são descritos a seguir:

- a) Subgrupo PC-AG e AG: os espécimes foram mantidos em água deionizada durante 2 min;
- Subgrupo PC-E e E: cada espécime foi escovados com escova elétrica macia (Oral-B Cross Action Power Whitening) sem nenhum creme dental por 10 s;
- c) Subgrupo PC-EConv e EConv: cada espécime foi escovado com escova elétrica macia com creme dental convencional (Colgate Total Clean Mint – Colgate-Palmolive Ind. E Com. Ltda, São Paulo, SP, Brasil), por 10 s;
- d) Subgrupo PC-EPerox e EPerox: cada espécime foi escovado com escova elétrica macia com creme dental clareador (Colgate Luminous White – Colgate-Palmolive Ind. E Com. Ltda, São Paulo, SP, Brasil), por 10 s;
- e) Subgrupo PC-EOpt e EOpt: cada espécime foi escovado com escova

elétrica macia com creme dental clareador (Close Up Diamond Attraction - Power White – Unilever Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil), por 10 s;

- Subgrupo PC-EAbras e EAbras: cada espécime foi escovado com escova elétrica macia com creme dental clareador (Oral-B 3D White Luxe - Procter & Gamble), por 10 s;
- g) Subgrupo PC-Lis e Lis: os espécimes foram mantidos por 2 min, no enxaguatório Listerine Whitening Pré-escovação (Johnson&Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil).

A Figura 4 ilustra o delineamento experimental dos grupos que foram submetidos ao clareamento com Peróxido de Carbamida a 10% e a Figura 5 ilustra o delineamento experimental dos grupos que não receberam o clareamento caseiro.

Durante a imersão no caldo de escurecimento e ciclos de enxaguatórios, os espécimes foram mantidos em constate agitação. A saliva artificial foi trocada diariamente. A Figura 6 ilustra os passos dos tratamentos.

A saliva artificial foi preparada de acordo com a fórmula descrita por Gohring et al. (2004): 12g de KCl; 8.5g de NaCl; 0.5g de MgCl2•6H2O; 3.5g de H2KPO4; 0.5g de H3BO3; 1g de CaCl2•2H2O; 1g de KSCN; para 5L de água deionizada, cada litro de saliva artificial preparada foi diluído em 1L de água deionizada e em solução de CHNaO3 (0.4198 g de CHNaO3 para 259.12mL de água deionizada) e o pH foi ajustado para 7 com solução de NaOH.

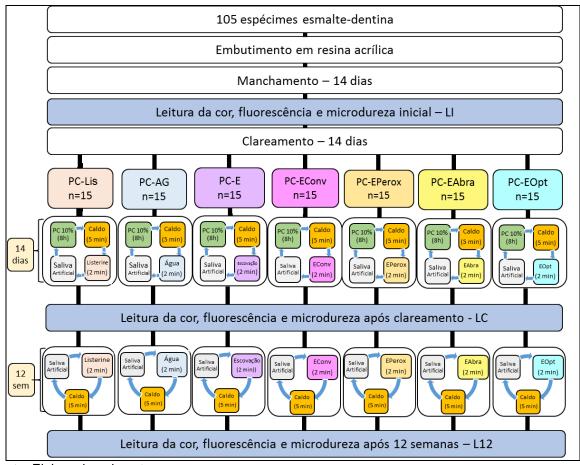


Figura 4 – Delineamento experimental dos grupos que foram clareados

Figura 5 – Delineamento experimental dos grupos que não foram clareados

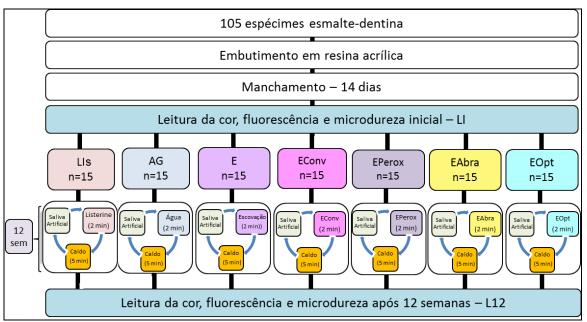
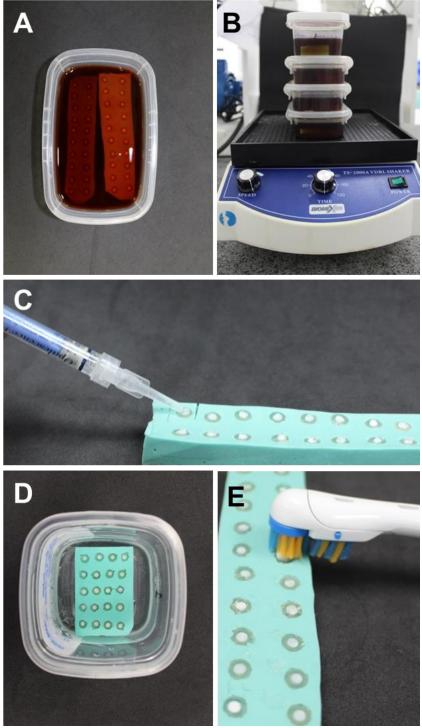


Figura 6 - Ilustração de passos do clareamento, manchamento, enxágues e escovações



Legenda: a) aplicação do gel clareador caseiro sobre os espécimes; b) imersão das matrizes no caldo de manchamento; c) bochechos com o caldo de manchamento em agitador automático; d) imersão dos espécimes em enxaguatório clareador antes; e) escovação com escova elétrica e dentifrício clareador.

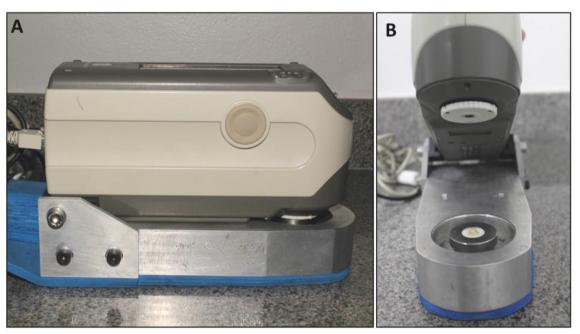
# 4.4 Mensuração de cor

Para avaliar a eficácia clareadora foi avaliada a cor dos espécimes. Para tanto, foi utilizado o aparelho espectrofotômetro CM-2600d (Konica Minolta, Osaka, Japão) mostrado na Figura 7, que possui uma esfera de integração. A cor e a distribuição espectral foram medidas de acordo com o Sistema CIE L\*a\*b\*, através do software *SpectraMagic NX* (Konica Minolta, Osaka, Japão) onde foi regulado o iluminante padrão D65 no modo de reflectância, com inclusão do ultra violeta, ângulo do observador 2º e a reflexão especular incluída segundo a International Standard Organization (2011) ISO-28642 e Ghassemi et al. (2012)

Para a avaliação da cor dos espécimes, a leitura foi feita sobre fundo branco, com componente UV incluído. O *software* forneceu os valores de diferenças de cor  $\Delta$ Eab. A fórmula do  $\Delta$ Eab\* é mostrada a seguir:

 $\triangle Eab = [(\triangle L^*)^2 + (\triangle a^*)^2 + (\triangle b^*)^2]^{1/2}$ 

Figura 7 – Espectrofotômetro

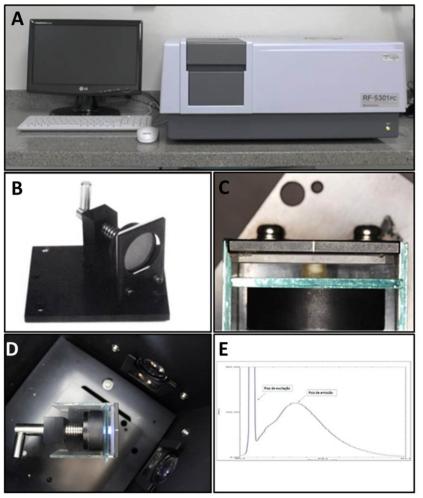


Legenda: a) Espectrofotômetro CM-2600d, Konica Minolta; b) Amostra posicionada em máscara e fundo brancos.

# 4.5 Mensuração de fluorescência

Para avaliar a influência do agente clareador caseiro e dos agentes clareadores de venda livre na fluorescência do dente foi utilizado o espectrofotômetro de fluorescência RF-5301 PC (Shimadzu Corp. Kyoto, Japão) (Figura 8).

Figura 8 - Ilustração da mensuração de fluorescência



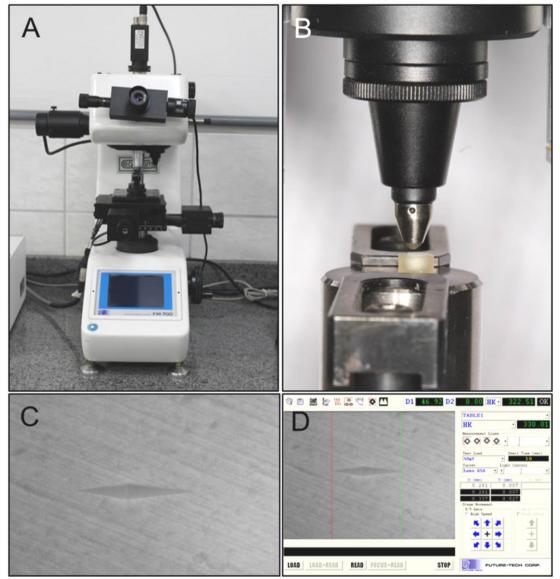
Legenda: a) espectrofotômetro de fluorescência RF-5301 PC; b) porta amostra que permite a leitura de sólidos; c) amostra posicionada no centro do porta amostras; d) emissão da luz fluorescente sobre a amostra; e) gráfico de fluorescência.

Este aparelho permite a leitura de amostras sólidas por meio da utilização de um porta amostras. Os espécimes foram fixados no aparelho com incidência do feixe de excitação no centro da amostra, com "slits" de emissão e excitação de 1,5 mm de abertura. Os dados obtidos foram registrados no computador acoplado ao aparelho na forma de gráfico, registrando todos os valores de intensidade de fluorescência que se encontram no espectro de luz visível entre 400 nm e 600 nm. O pico de excitação de fluorescência foi no comprimento de onda de 365nm. Foi medida a intensidade de fluorescência do pico de emissão através da ferramenta "Peak pick" no software RFPC (Shimadzu Corp., Kyoto, Japão), bem como o comprimento de onda do pico.

### 4.6 Mensuração de microdureza

Para avaliar a influência dos produtos clareadores sobre a dureza do esmalte, foram realizadas as leituras de dureza Knoop através do microdurômetro (FM-700, Future-Tech, Tóquio, Japão) ilustrado na Figura 9 com carga de 50 kgf durante 10 s. Em cada espécime foram realizadas três endentações com distância de 100 µm entre si e a média das três medidas foi determinada. As medidas foram obtidas após o manchamento, 24 h após o clareamento e após 12 semanas de tratamento com os agentes de venda livre.

Figura 9 - Ilustração da mensuração da microdureza



Legenda: a) microdurômetro FM-700, Future-Tech; b) ponta endentadora; c) marca da endentação sobre a superfície de esmalte; d) leitura da endentação e obtenção do valor da dureza. Fonte: Elaborado pelo autor.

# 4.7 Planejamento estatístico

Os dados de cor, dureza e fluorescência seguiram uma distribuição normal. Assim, testes paramétricos foram adotados. Para testar as hipóteses do estudo os seguintes planejamentos estatísticos foram seguidos:

# 4.7.1 Hipóteses: a associação de agentes clareadores de venda livre durante o clareamento caseiro não interfere na eficácia clareadora e o uso dos agentes não são capazes de manter o clareamento obtido pelo Peroxido de Carbamida a 10%

Com o objetivo de analisar a influência da associação de agentes clareadores de venda livre durante o tratamento clareador com Peróxido de Carbamida a 10%, e o efeito do uso destes agentes clareadores na manutenção do Clareamento obtido com Peróxido de Carbamida a 10% foi delineado um experimento que segue um esquema fatorial (7 X 2), totalizando 14 condições experimentais sob 15 repetições, para a variável resposta cor.

Nesse estudo, cujos dentes foram a unidade experimental, foi considerada 2 variáveis independentes (ou experimentais): tipo de agente clareador de venda livre (Listerine Whitening., Colgate Luminous White, Oral 3D White, Close-up White Now, Colgate Total Clean Mint, água destilada e escovação sem dentifrício) e tempo. A estatística descritiva consistiu no cálculo de médias e desvio padrão. A estatística inferencial consistiu nos testes de Análise de variância de medidas repetidas e teste de comparações múltiplas de *Tukey* para a variável resposta cor. O nível de significância escolhido foi o valor convencional de 5%.

Para as variáveis resposta fluorescência e dureza foram consideradas 2 variáveis independentes: tipo de agente clareador de venda livre e tempo (inicial, após o clareamento e após 12 semanas). A estatística descritiva consistiu no cálculo de médias e desvio padrão. A estatística inferencial consistiu nos testes de Análise de variância de medidas repetidas e teste de comparações múltiplas de *Tukey* O nível de significância escolhido foi o valor convencional de 5%.

# 4.7.2 Hipótese: não há diferença no efeito clareador entre os produtos de venda livre testados

Planejamento: Para analisar o efeito do uso de agentes clareadores de venda livre foi delineado um experimento que segue o esquema fatorial 7 X 1 para a variável resposta cor. A estatística descritiva consistiu no cálculo de médias e desvio

padrão. A estatística inferencial consistiu nos testes de Análise de variância a um fator e Tukey para a variável resposta cor. Para a análise da Fluorescência e Dureza foi aplicado teste t-pareado para cada agente de venda livre, comparando-se as leituras inicial (LI) e após 12 semanas de tratamento (L12). O nível de significância escolhido foi o valor convencional de 5%.

# 4.7.3 Hipótese: os agentes clareadores de venda livre não são capazes de produzir efeito clareador diferente do clareamento caseiro

Planejamento: Para avaliar comparar a eficácia dos agentes clareadores de venda livre após as 12 semanas de tratamento com o clareamento com o gel de Peróxido de Carbamida 10%, foi realizado o teste de Análise de variância a um fator e teste de comparação com controle (clareamento caseiro) de *Dunnet*. O nível de significância escolhido foi o valor convencional de 5%.

#### **5 RESULTADO**

5.1 Hipóteses: a associação de agentes clareadores de venda livre durante o clareamento caseiro não interfere na eficácia clareadora e o uso dos agentes não são capazes de manter o clareamento obtido pelo Peroxido de Carbamida a 10%

#### 5.1.1 Cor

A cor foi medida nos subgrupos que foram submetidos ao clareamento com Peróxido de Carbamida a 10% associado aos ciclos de bochechos ou escovação com os agentes clareadores de venda livre, sendo as leituras de cor realizadas antes (LI), após o clareamento (LC) e após 12 semanas do ciclo dos agentes clareadores de venda livre (L12). Foram calculadas as diferenças de cor  $\Delta$ Eab1 (LC – LI) e  $\Delta$ Eab2 (L12 – LI).

As médias e os respectivos desvios-padrão das coordenadas ( $\Delta L^*1$ ,  $\Delta a^*1$  e  $\Delta b^*1$ ) e da diferença de cor  $\Delta Eab1$  estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de média e desvio-padrão (DP) das coordenadas ( $\Delta$ L\*1,  $\Delta$ a\*1 e  $\Delta$ b\*1) e da diferença de cor  $\Delta$ Eab1 para os subgrupos submetidos ao clareamento prévio com Peróxido de Carbamida a 10%

Subarupa	ΔL*	1	Δa*	1	Δb*	·1	ΔEa	b1
Subgrupo	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
PC-Lis	4,30	1,96	0,25	0,90	-4,93	1,20	6,77	1,71
PC-AG	4,48	3,33	-0,14	0,90	-5,77	2,12	7,70	3,18
PC-E	2,77	2,04	0,23	0,90	-4,98	1,59	6,00	1,93
PC-EConv	3,11	1,86	0,25	0,48	-4,52	1,55	5,89	1,14
<b>PC-EPerox</b>	4,13	2,68	0,14	0,70	-4,51	2,16	6,35	3,04
PC-EAbras	3,68	2,08	0,39	0,40	-4,31	1,81	5,91	2,21
PC-EOpt	2,58	2,18	-0,44	0,38	-5,53	2,16	6,54	1,96

A Tabela 2 apresenta os valores de média e os respectivos desvios-padrão das coordenadas ( $\Delta L^*2$ ,  $\Delta a^*2$  e  $\Delta b^*2$ ) e da diferença de cor  $\Delta Eab2$ .

Tabela 2 – Valores de média e desvio-padrão (DP) das coordenadas ( $\Delta$ L\*2,  $\Delta$ a\*2 e  $\Delta$ b\*2) e da diferença de cor  $\Delta$ Eab2 para os subgrupos submetidos ao tratamento com o Peróxido de Carbamida a 10% e a 12 semanas de tratamento com os agentes clareadores de venda livre

Subaruna	ΔL	2*	∆a2*		∆b2*		ΔEab2	
Subgrupo	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
PC-Lis	1,96	3,44	-0,79	0,84	-0,79	0,84	3,38	2,55
PC-AG	-0,58	2,36	-0,78	0,86	-1,25	2,22	3,43	1,14
PC-E	0,12	4,07	-0,54	1,04	-1,89	2,72	4,72	2,31
PC-EConv	0,30	3,33	-0,49	0,87	-3,51	2,40	5,17	1,61
PC-EPerox	2,70	2,20	-0,49	0,64	-5,02	1,84	6,03	2,18
<b>PC-EAbras</b>	0,58	2,57	-0,45	0,61	-3,35	0,98	4,23	1,19
PC-EOpt	-1,63	0,78	-1,67	0,78	-4,33	3,01	6,61	3,06

Fonte: Elaborado pelo autor.

Pelas Tabelas 1 e 2, observa-se que os valores de  $\Delta b^*$  foram negativos em todas as condições. Isto significa que os valores de  $b^*$  tenderam para a esquerda do eixo b ao longo do experimento, indicando uma diminuição da saturação da cor amarela e tomando a direção azul.

As Figuras 10 e 11 mostram as curvas espectrais médias de todos os subgrupos após o clareamento com Peróxido de Carbamida a 10% e após 12 semanas de tratamento com os agentes de venda livre. O aumento da reflectância nos subgrupos após o clareamento em relação à curva inicial mostra que de fato as amostras foram clareadas.

Figura 10 - Curvas espectrais médias dos subgrupos após clareamento com Peróxido de Carbamida a 10%

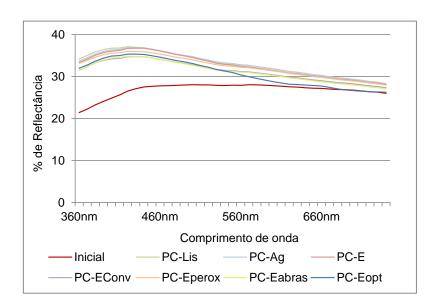
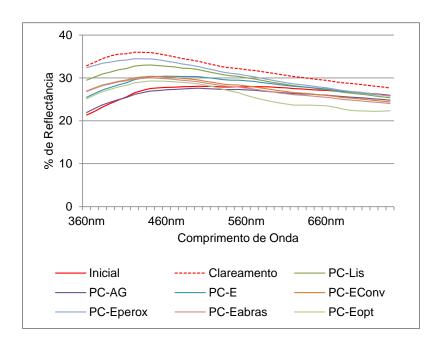


Figura 11 - Curvas espectrais médias dos subgrupos após 12 semanas de tratamento com os agentes de venda livre



Os dados de diferença de cor ΔEab1 e ΔEab2 foram analisados pela ANOVA de medidas repetidas e não apresentaram diferenças significativas entre os agentes de venda livre, porém a diferença estatística foi significante na varável tempo e na interação dos fatores. A Tabela 3 apresenta o resultado da ANOVA de medidas repetidas.

Tabela 3 – Resultado da ANOVA de Medidas Repetidas para ΔEab\*

	Graus de liberdade	F	р
Agentes Clareadores	6	1,3398	0,246919
Tempo	1	50,7135	0,000000*
Tempo*Agentes Clareadores	6	6,3215	0,000012*

\*Diferença significativa. Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 4 apresenta o resultado do teste *Tukey* para o fator tempo e a Figura 12 apresenta o resultado do teste *Tukey* para a interação dos fatores.

Tabela 4 - Resultado do teste *Tukey* para o fator tempo

Tempo	Médias	Conjuntos ho	omogêneos
Após 12 semanas (ΔEab2)	4,79	а	
Após o Clareamento (ΔEab1)	6,51		b

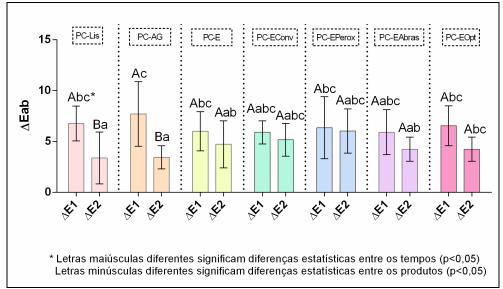


Figura 12 – Resultado do teste *Tukey* para a interação dos fatores

Pelo resultado da interação, observa-se que a associação de agentes clareadores de venda livre durante o Clareamento com Peróxido de Carbamida a 10% não alterou a eficácia do tratamento, visto que todos os grupos não apresentaram diferença estatística entre eles. Porém, após o tratamento com agentes de venda livre por 12 semanas, os grupos PC-Lis e PC-AG diferiram estatisticamente da condição após o clareamento, mostrando uma diminuição significativa do ΔEab2.

Os dados de diferença da coordenada de cor b\* (Δb), que significa a variação do azul para o amarelo, foram analisados pela ANOVA de Medidas Repetidas (Tabela 5) e apresentaram diferenças estatísticas nos fatores agentes clareadores, tempo e na interação dos fatores. Em seguida, foi realizado o teste de *Tukey* (Tabelas 6 e 7 e Figura 13).

Tabela 5 – Resultado da ANOVA de Medidas Repetidas para Δb

	Graus de liberdade	F	р
Agentes Clareadores	6	2,6655	0,019409*
Tempo	1	100,4417	0,000000*
Tempo*Agentes Clareadores	6	11,8368	0,000000*

<sup>\*</sup>Diferença significativa.

Tabela 6 - Resultado do teste *Tukey* para o fator Agentes Clareadores

Agente Clareador	Médias	Grupos homogêneos*		
PC-EOpt	-4,93	а		
PC-EPerox	-4,76	a	b	
PC-EConv	-4,02	a	b	
PC-EAbras	-3,83	a	b	
PC-E	-3,60	a	b	
PC-AG	-3,51	a	b	
PC-Lis	-2,86	u		

<sup>\*</sup>Conjuntos com a mesma letra não apresentam diferenças significativas. Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 7 - Resultado do teste *Tukey* para o fator tempo

Tempo	Médias	Conjuntos ho	omogêneos*
Após o Clareamento (Δb1)	-4,98	а	
Após 12 semanas (Δb2)	-2,88		b

<sup>\*</sup>Conjuntos com a mesma letra não apresentam diferenças significativas.

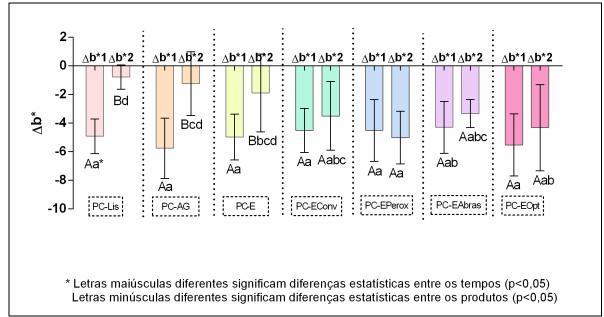


Figura 13 – Resultado do teste *Tukey* para a interação dos fatores

#### 5.1.2 Fluorescência

A fluorescência foi medida nos subgrupos que foram submetidos ao clareamento associado aos ciclos de bochechos ou escovação com os agentes clareadores de venda livre, sendo as leituras realizadas antes (LI), após o clareamento (LC) e após 12 semanas do ciclo dos agentes clareadores de venda livre (L12).

As médias e os respectivos desvios-padrão da fluorescência, bem como do pico de emissão estão expressos na Tabela 8.

Tabela 8 – Valores de média e desvio-padrão (DP) dos valores de fluorescência (U.A. – Unidades Arbitrárias) e comprimento de onda do pico de emissão (nm) para os subgrupos submetidos ao tratamento Clareador com Peróxido de Carbamida a 10% e com os agentes clareadores de venda livre por 12 semanas

Inicial			al (LI)		Α	Após Clareamento (LC)				Após 12 semanas (L12)			
Subgrupos	Fluores	cência	Pico de E	missão	Fluores	scência	Pico de E	missão	Fluores	cência	Pico de E	missão	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
PC-Lis	55,90	8,14	443,67	4,82	72,90	11,53	440,27	2,25	70,45	9,50	443,67	3,56	
PC-AG	54,73	9,60	440,33	4,48	79,42	11,42	441,80	3,97	66,50	9,46	442,47	3,09	
PC-E	56,53	10,82	439,73	4,50	71,46	12,95	442,13	4,14	63,62	9,26	443,73	3,73	
PC-EConv	58,20	11,56	441,73	4,32	72,53	15,06	439,07	3,20	73,25	11,64	442,40	4,14	
PC-EPerox	56,46	7,67	441,27	5,44	69,08	15,47	439,53	2,50	77,85	9,55	443,20	3,47	
PC-EAbras	60,53	14,22	441,33	5,09	73,42	15,70	441,33	4,45	74,85	13,17	443,87	3,38	
PC-EOpt	56,64	13,37	440,07	5,70	70,46	16,01	440,87	3,78	69,12	10,34	444,00	3,78	

Os valores referentes à fluorescência foram analisados através da ANOVA de medidas repetidas, cujo resultado está expresso na Tabela 9, com as leituras de fluorescência inicial (LI), após o clareamento (LC) e após 12 semanas do tratamento com os agentes clareadores de venda livre (L12). Os resultados apresentaram diferenças estatísticas para o fator tempo e na interação dos fatores. Em seguida, foi realizado o teste Tukey.

Tabela 9 - Resultado da ANOVA de Medidas Repetidas para a fluorescência

	Grau de liberdade	F	р
Agentes Clareadores	6	0,606	0,724615
Tempo	1	89,639	0,000000*
Tempo*Agentes Clareadores	6	2,438	0,00563*

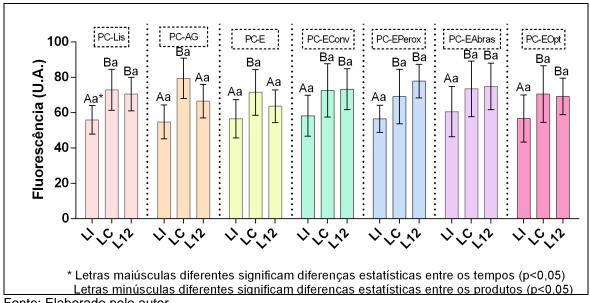
\*Diferença significativa. Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 10 apresenta o resultado do teste *Tukey* para o fator tempo e a Figura 14 apresenta o resultado do teste *Tukey* para a interação dos fatores.

Tabela 10 - Resultado do teste Tukey para o fator tempo

Tempo	Médias	Conjuntos homogêneos	
Leitura Inicial (LI)	57,00	а	
Após 12 semanas (L12)	70,81	b	
Após o Clareamento (LC)	72,75	b	

Figura 14 – Resultado do teste *Tukey* para a interação dos fatores



#### **5.1.3 Dureza**

A Dureza foi medida nos subgrupos que foram submetidos ao clareamento associado aos ciclos de bochechos ou escovação com os agentes clareadores de venda livre, sendo as leituras realizadas antes (LI), após o clareamento (LC) e após 12 semanas do ciclo dos agentes clareadores de venda livre (L12).

As médias e os respectivos desvios-padrão da Dureza estão expressos na Tabela 11.

Tabela 11 – Valores de média e desvio-padrão (DP) dos valores de Dureza

Subarupas	Inio	cial	Após Cla	reamento	Após 12 s	emanas	
Subgrupos	(L	_l)	(L	_C)	(L12)		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
PC-Lis	266,07	46,34	275,69	45,97	265,15	35,40	
PC-AG	277,68	55,40	262,37	60,67	264,68	37,81	
PC-E	286,39	42,48	262,45	47,03	294,00	25,00	
PC-EConv	269,93	52,13	268,53	68,91	294,20	24,18	
PC-EPerox	292,49	37,68	287,24	32,60	290,10	33,32	
PC-EAbras	286,33	41,77	268,26	56,83	300,20	16,88	
PC-EOpt	277,98	47,64	276,89	59,17	284,80	28,12	

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores referentes à dureza foram analisados através da ANOVA de medidas repetidas, cujo resultado é mostrado na Tabela 12. Observa-se que não houve diferença estatística entre os fatores agente clareador de venda livre, tempo ou na interação entre eles.

Tabela 12 - Resultado da ANOVA de medidas repetidas para a dureza

	Graus de liberdade	F	р
Agentes Clareadores	6	1,031	0,410061
Tempo	2	2,837	0,060995
Tempo X Agentes Clareadores	12	0,867	0,581843

# 5.2 Hipótese: não há diferença no efeito clareador entre os produtos de venda livre testados

#### 5.2.1 Cor

A variação de cor foi medida nos subgrupos sem o clareamento prévio com Peróxido de Carbamida a 10% e que foram submetidos aos ciclos de bochechos ou escovação com os agentes clareadores de venda livre, sendo que as leituras de cor foram realizadas inicialmente (LI) e após 12 semanas do ciclo dos agentes clareadores de venda livre (L12).

As médias e os respectivos desvios-padrão das coordenadas ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$ ) e da diferença de cor  $\Delta Eab^*$  estão expressos na Tabela 13.

Tabela 13 – Valores de média e desvio-padrão (DP) das coordenadas ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  e  $\Delta b^*$ ) e da diferença de cor  $\Delta Eab^*$  para os subgrupos submetidos ao tratamento com os agentes clareadores de venda livre, para todas as condições experimentais

Cubarupa	Subaruna AL*		Δa*		Δb*		ΔEab*	
Subgrupo	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Lis	-1,01	1,52	-0,70	0,38	-2,71	1,35	3,35	1,32
AG	-6,15	4,35	-0,14	1,83	3,76	3,03	8,15	4,01
E	-3,02	2,46	-0,57	0,41	0,73	2,21	4,31	1,36
<b>EConv</b>	-1,86	1,38	-0,69	0,31	-0,70	1,16	2,57	1,03
<b>EPerox</b>	-0,35	1,55	-0,59	0,64	-2,41	1,48	3,05	1,34
<b>EAbras</b>	-0,96	2,54	-0,73	0,60	-1,83	1,77	3,32	1,82
<b>EOpt</b>	-3,08	1,66	-1,50	0,92	-1,94	1,81	4,47	1,44

Pela Tabela 13, observa-se que os valores de  $\Delta b^*$  foram negativos em todas as condições, com exceção dos subgrupos AG e E.

A Figura 15 mostra as curvas espectrais médias inicial e de todos os subgrupos após 12 semanas do tratamento com o agentes clareadores de venda livre.

40

ignorphises 30

360nm 460nm 560nm 660nm

Comprimento de Onda

— Inicial — Lis — AG — E

— EConv — EPerox — EAbra — EOpt

Figura 15 - Curvas espectrais médias dos subgrupos após 12 semanas

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados de diferença de cor  $\Delta Eab^*$  obtidos através das leituras de cor foram analisados pela ANOVA a 1 fator e apresentaram diferenças significativas entre os subgrupos (a Tabela 14 apresenta o resultado da ANOVA). Foram posteriormente submetidos ao teste de *Tukey*, e os resultados são apresentados na Tabela 15.

Tabela 14 – Resultado da ANOVA a 1 fator para ΔEab\*

	Graus de liberdade	F	р
Agentes Clareadores	6	13,2685	0,000000*

Tabela 15 - Resultado do teste *Tukey* para o fator agente clareador de venda livre

Subgrupos	Médias	Grupos hor	nogêneos*
EConv	2,57	а	
<b>EPerox</b>	3,05	а	
<b>EAbras</b>	3,32	а	
Lis	3,35	а	
E	4,31	а	
EOpt	4,47	а	
AG	8,15		b

<sup>\*</sup>Conjuntos com a mesma letra não apresentam diferenças significativas. Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados de diferença da coordenada de cor  $b^*$  ( $\Delta b$ ), foram analisados pela ANOVA (Tabela 16) e apresentaram diferenças estatísticas. Em seguida, foi realizado o teste de *Tukey* cujo resultado é apresentado na Tabela 17.

Tabela 16 – Resultado da ANOVA a 1 fator para Δb

	Graus de liberdade	F	р
Agentes Clareadores	6	21,4799	0,000000*

\*Diferença significativa.

Tabela 17 - Resultado do teste *Tukey* para o fator agente clareador de venda livre

Subgrupos	Médias	Grup	os homogên	eos*
Lis	-2,71	а		
E Perox	-2,41	а		
EOpt	-1,94	а		
<b>EAbras</b>	-1,83	а		
<b>EConv</b>	-0,70	а	b	
E	0,73		b	
AG	3,76			С

<sup>\*</sup>Conjuntos com a mesma letra não apresentam diferenças significativas.

#### 5.2.2 Fluorescência

A fluorescência foi medida nos subgrupos que foram submetidos ao aos ciclos de bochechos ou escovação com os agentes clareadores de venda livre, sem o clareamento prévio com Peróxido de Carbamida a 10%, sendo as leituras realizadas antes (LI) e após 12 semanas do ciclo dos agentes clareadores de venda livre (L12).

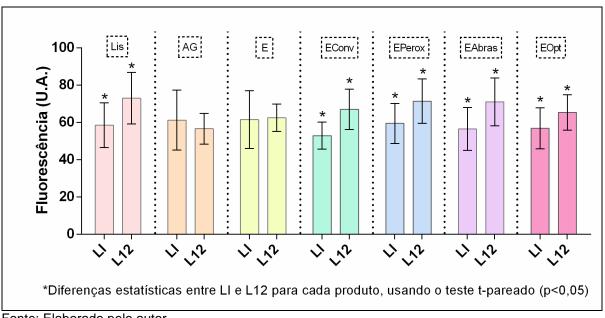
As médias e os respectivos desvios-padrão da fluorescência, bem como do pico de emissão estão expressos na Tabela 18.

Foi aplicado o teste t-pareado para comparar os valores de fluorescência inicial (LI) e após 12 semanas do tratamento com os agentes clareadores de venda livre (L12), para cada produto. A Figura 16 mostra o resultado do teste t-pareado.

Tabela 18 – Valores de média e desvio-padrão (DP) dos valores de fluorescência (U.A. - Unidades Arbitrárias) e comprimento de onda do pico de emissão (nm) para os subgrupos submetidos ao tratamento com os agentes clareadores de venda livre por 12 semanas

	Inicial (L1)			Após 12 semanas (L12)				
Subgrupos	Fluores	cência	Pico de E	missão	Fluores	scência	Pico de E	missão
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Lis	58,53	11,99	442,20	3,80	73,00	13,86	446,93	4,68
AG	61,24	16,14	442,53	5,37	56,62	8,30	443,40	5,25
E	61,48	15,52	442,47	4,67	62,49	7,39	418,71	4,12
<b>EConv</b>	52,91	7,30	439,93	4,73	67,03	10,81	441,93	3,47
<b>EPerox</b>	59,45	10,71	440,14	3,82	71,40	11,94	443,53	4,52
<b>EAbras</b>	56,45	11,52	442,67	5,19	71,06	12,85	442,80	3,90
<b>EOpt</b>	56,79	10,97	444,20	4,69	65,34	9,48	447,67	4,67

Figura 16 – Resultado do teste t-pareado



#### **5.2.3 Dureza**

A Dureza foi medida nos subgrupos que foram submetidos à ação dos agentes clareadores de venda livre, sendo as leituras realizadas antes (LI) e após 12 semanas do ciclo dos agentes clareadores de venda livre (L12).

As médias e os respectivos desvios-padrão da Dureza estão expressos na Tabela 19.

Tabela 19 – Valores de média e desvio-padrão (DP) dos valores de Dureza

	Inic	ial	Após 12 se	emanas	
Subgrupos	(LI	)	(L12)		
	Média	DP	Média	DP	
Lis	286,35	43,03	292,47	21,71	
AG	281,91	41,99	285,67	22,06	
E	261,41	46,78	276,29	36,84	
<b>EConv</b>	259,25	35,35	291,86	20,25	
<b>EPerox</b>	267,97	52,46	289,85	19,19	
<b>EAbras</b>	260,67	80,3	291,79	23,26	
EOpt	289,28	51,89	281,1	20,77	

Fonte: Elaborado pelo autor.

Foi aplicado o teste t-pareado para comparar os valores de dureza inicial (LI) e após 12 semanas do tratamento com os agentes clareadores de venda livre (L12), para cada produto. A Figura 17 mostra o resultado do teste t-pareado.

\*Diferenças estatísticas entre LI e L12 para cada produto, usando o teste t-pareado (p<0,05)

Figura 17 – Resultado do teste t-pareado

# 5.3 Hipótese: os agentes clareadores de venda livre não são capazes de produzir efeito clareador diferente do clareamento caseiro

Foi realizado o teste de Análise de Variância a um fator e teste de comparação com controle de *Dunnet*, considerando como grupo controle o subgrupo PC-AG (cujos espécimes foram submetidos ao clareamento caseiro e bochechos com água) e os grupos teste: Lis, EConv, EPerox, EAbras e EOpt, os quais apresentaram algum grau de clareamento em 12 semanas de tratamento. Foram realizado os testes para a diferença de cor  $\Delta$ Eab\* e também para o  $\Delta$ b.

A Figura 18 apresenta as curvas espectrais do grupo controle e dos grupos teste e os resultados do teste de Anova a 1 fator estão apresentados na Tabela 20. A Tabela 21 apresenta o resultado do Teste de *Dunnet*.

Figura 18 – Curvas espectrais médias dos subgrupos

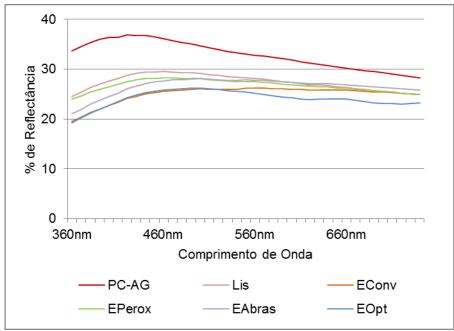


Tabela 20 - Resultado da ANOVA para ΔEab\*

	Graus de liberdade	F	р
Agentes Clareadores - ΔEab*	5	15,8725	0,000000*
Agentes Clareadores - Δb	5	16,3188	0,000000*

Tabela 21 – Resultado do teste Dunnet

Subgrupos	ΔEab*	Δb
PC-AG		
LI	0,000022*	0,000027*
<b>EConv</b>	0,000022*	0,000022*
<b>EPerox</b>	0,000022*	0,000023*
EAbras	0,000022*	0,000022*
EOpt	0,000035*	0,000022*

<sup>\*</sup>Diferença estatística significativa em relação ao grupo controle. Fonte: Elaborado pelo autor.

## 6 DISCUSSÃO

O aumento da procura por produtos clareadores de venda livre nos leva a buscar mais informações sobre seus comportamentos e efetividade em um ambiente que simula as condições orais. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito dos agentes clareadores de venda livre na cor, fluorescência e dureza da superfície do esmalte dental, sua associação com o clareamento convencional com Peróxido de Carbamida a 10% e comparar seu efeito com o clareamento caseiro com Peróxido de Carbamida a 10%.

Para a realização desses estudo, foram selecionados dentes bovinos para confecção dos espécimes. A escolha por dentes bovinos se justifica devido ao fato de que são semelhantes aos dentes humanos. Embora o esmalte dos dentes bovinos apresentem características diferentes dos dentes humanos, como por exemplo, maior número de poros, cristais de tamanho maior e diferenças estruturais nos prismas do esmalte (Arends, Jongebloed, 1978; Whittaker et al., 1988), o estudo de. Teruel Jde et al. (2015) comparando a composição química do esmalte dentário de diferentes tipos de mamíferos (bovinos, suínos e ovinos) mostra que os dentes bovinos são os mais semelhantes aos dentes humanos, possibilitando assim, relacionar os resultados deste estudo com o que se espera clinicamente em dentes humanos. Muitos estudos sobre o clareamento dental e agentes clareadores de venda livre também realizaram testes em espécimes de dentes bovinos (Joiner et al., 2004b, 2008b; Lima et al., 2012; Attia et al., 2015; Bhutani et al., 2016; Bortolatto et al., 2016).

Os espécimes foram embutidos em resina acrílica incolor antes do manchamento com o caldo modificado preconizado pela *American Dental Association* (2008) para obtermos características similares ao que ocorre clinicamente em relação ao manchamento do esmalte dental. Muito estudos realizam o processo do manchamento do espécime de esmalte e dentina previamente ao embutimento, porém, como a dentina é um tecido mais poroso, a incorporação de pigmentos é maior, ocasionando um grau de escurecimento maior. Por consequência, aparentemente o espécime fica mais escuro se observado através do esmalte, devido à translucidez desse tecido que transpassa a coloração mais escura da dentina. O embutimento realizado antes do manchamento garante

que o manchamento da dentina ocorrera indiretamente, assim como ocorre no ambiente intrabucal, visto que a resina acrílica proporciona o velamento do espécime, mantendo apenas a superfície do esmalte em contato com o caldo de manchamento.

Nesse estudo, os espécimes foram polidos após o processo de manchamento, então, na leitura inicial o manchamento extrínseco não foi considerado. Muitos estudos sobre clareamento dental têm utilizado o manchamento previamente ao clareamento (Freccia et al., 1982; Sulieman et al., 2003, 2005; Moore et al., 2008; Alaghemand et al., 2015; Bhutani et al., 2016), com a finalidade de conferir às amostras uma condição extrema de manchamento e assim avaliar os tratamentos clareadores sob essas condições, na maioria desses estudos utilizamse soluções os misturas de pigmentos alimentícios, sanguíneos ou de origem bacteriana. Um dos métodos mais utilizados para avaliar a remoção de manchamento por escovas dentais in vitro foi desenvolvido por Stokes et al. (1982). Nesse modelo, foram utilizados blocos de esmalte bovino montados em blocos de polimetacrilato, esses espécimes foram polidos e condicionados com ácido para facilitar a aderência e a incorporação de pigmentos. Eles foram tratados por um aparato de manchamento e proporciona imersão alternada em um ambiente de manchamento e secagem com ar em 37°C. Esse método fornece o manchamento extrínseco nos dentes. No presente estudo, utilizamos o caldo de manchamento modificado preconizado pela American Dental Association (2008) que contém pigmentos de origem alimentícia, pois são os que causam maior escurecimento dental e estão presentes com maior frequência na alimentação das pessoas (Watts, Addy, 2001). O período de imersão e agitação das amostras no caldo de manchamento foi de 14 dias. Um estudo comprova que o maior grau de manchamento da amostra se dá ao décimo quarto dia de imersão, e além desse período, não há mais incorporação do pigmento na superfície do esmalte (Wozniak et al., 1991).

Os ciclos de escovação e enxágue foram delineados de maneira que se aproximassem com maior fidelidade das condições bucais e hábitos observados clinicamente. Muitos estudos avaliam o desempenho de dentifrícios em máquinas de escovações (Wiegand et al., 2004; Bazzi et al., 2012; Bolay et al., 2012; Bortolatto et al., 2016; Vieira-Junior et al., 2016), as quais simulam a escovação com

padronização de carga e tempo em ciclos contínuos. No presente estudo, optou-se por realizar a escovação manual com escovas elétricas para que se respeitasse o tempo e a sequência do ciclo estabelecido. A utilização da máquina de escovação automática, não permitiria o contato diário das amostras com o caldo de manchamento, considerando que durante os tratamentos de clareamento ou utilização de produtos clareadores, o meio bucal dos pacientes está em contínuo contato com corantes alimentícios. O período de armazenamento em saliva artificial também é importante pois ocorre o contato da superfície do esmalte dental com os sais minerais presentes na saliva que pode amenizar ou influenciar no efeito desmineralizador do Peróxido de Carbamida a 10% e o efeito dos dentifrícios e enxaguatórios bucais (lonta et al., 2014).

O espectrofotômetro utilizado no estudo foi capaz de fornecer os valores das coordenadas do espaço de cor L\*, a\* e b\* e a diferença desses valores após a ação do clareamento com o Peróxido de Carbamida a 10% e após a utilização dos produtos clareadores de venda livre. A variável \( \Delta Eab^\* \) expressa à diferença de cor considerando as três coordenadas de cor em diferentes tempos de leitura. Quanto maior o valor de  $\Delta$ Eab, maior foi à alteração de cor da amostra, mas essa alteração, não informa se o espécime foi escurecido ou clareado. Para tornar os resultados mais claros é necessário a avaliação das coordenadas de cor separadamente. Não existe na literatura, um consenso sobre avaliação de cor em clareamento dental sobre qual das coordenadas de cor é a mais apropriada para mostrar o efeito clareador. Bengel (2003) observou que após o clareamento, a maior mudança ocorre nas coordenadas L\* e b\* e a coordenada b\* é a mais relevante para avaliar o tratamento clareador. De acordo com o autor, o valor de ΔE não expressa a alteração total da cor e é mais apropriada a avaliação desse valor juntamente com o valor de b\*. Quando o valor de Δb\* é negativo, significa que a cor da amostra desloca do amarelo para o azul e quando isso ocorre, a cor aparente do espécime é mais clara na leitura atual do que na leitura anterior, assim como o aumento do valor de L\* tende a expressar o clareamento.

Os resultados mostraram que a metade das amostras que foram tratadas com Peróxido de Carbamida 10% e sua associação com os agentes clareadores de venda livre durante 14 dias, segundo a recomendação do fabricante, realmente foram clareadas e não houve diferenças significativas no clareamento entre os

subgrupos. As curvas espectrais observadas na Figura 10 mostram o aumento da reflectância de todos os subgrupos de maneira semelhante em relação à curva da leitura antes do clareamento, confirmando a afirmativa anterior. Isso pode ser explicado pelo fato de que os dentes, quando submetidos ao tratamento clareador com Peróxido de Carbamida a 10% alcançam um grau de saturação de clareamento em que a cor não será clareada independente do tempo de aplicação, do período de utilização e da concentração do gel clareador aplicado sobre a superfície do esmalte (Kwon, Wertz, 2015). Sendo assim, o uso do gel clareador de Peróxido de Carbamida 10% foi o maior responsável pelo efeito clareador constatado em todos os subgrupos, mascarando uma possível influência que os agentes clareadores de venda livre podem ter exercido na cor dos espécimes.

A fluorescência é a propriedade de uma substância que absorve luz e então espontaneamente emite em um comprimento de onda maior (Armstrong, 1963). A fluorescência dos dentes também pode influenciar na percepção da cor, sob a luz azul, a dentina é mais fluorescente que o esmalte e a fluorescência diminui diante de atividade de cárie e desmineralização dental em meios ácidos (Benedict, 1928). Acredita-se então que essa propriedade está associada com a porção orgânica da dentina (Spitzer, ten Bosch, 1977; Foreman, 1980). Na análise de fluorescência após os 14 dias de clareamento com Peróxido de Carbamida 10%, os resultados mostraram um aumento significativo da fluorescência, o que nos leva a concluir que o clareamento também teve influência nessa propriedade, levando o dente a emitir mais luz na faixa de 450 nm que na condição inicial. Para o grupo não clareado com Peróxido de Carbamida a 10%, os subgrupos AG e E mostraram menor mudança na fluorescência, enquanto que s outros tiveram esses valores aumentados. Esses subgrupos não contêm abrasivos ou agentes químicos presentes nos produtos testados, que podem remover manchas extrínsecas adsorvidos na superfície de esmalte (matéria orgânica depositada nos espécimes pela imersão no caldo de manchamento). Os subgrupos em que os valores da fluorescência aumentaram apresentam menos matéria orgânica na superfície do esmalte, o que pode promover a maior absorção da luz incidida e consequentemente, maior emissão de luz fluorescente.

Apesar do tratamento clareador geralmente causar a desmineralização do esmalte dental diminuindo assim, sua dureza (Ghanbarzadeh et al., 2015; Moosavi,

Darvishzadeh, 2016), não houve diferenças entre as leituras iniciais e após o clareamento em todos os subgrupos. Isso se deve ao fato de que os espécimes ficaram armazenados em saliva artificial durante o período em que não estavam sob clareamento ou sob os ciclos de escovação e enxágue e esse contato com a saliva auxiliou na remineralização do esmalte (lonta et al., 2014).

Ao fim do tratamento clareador com o Peróxido de Carbamida 10%, os subgrupos clareados permaneceram durante 12 semanas sob tratamento dos agentes clareadores de venda livre de acordo com seus ciclos. Os resultados mostraram que houve diferença estatística entre os tempos LC e L12 tanto no valor de  $\Delta Eab$ , em que se observa que houve a alteração de cor durante essas 12 semanas, quanto no Δb. No entanto, na análise da interação dos fatores, observamos que os grupos PC-AG, PC-Lis e PC-E tiveram um aumento significativo do  $\Delta b$ , permitindo-nos concluir que nestes grupos houve o escurecimento dos espécimes, ou seja, esses agentes não mantiveram o clareamento com o Peróxido de Carbamida 10%. Apesar da diminuição do o Δb\* nos demais subgrupos, não houve diferença significativa da condição pós-clareamento, permitindo afirmar que eles foram capazes de manter os resultados obtidos com o clareamento com Peróxido de Carbamida a 10%. Alguns estudos relatam que agentes abrasivos podem promover o clareamento do esmalte dental, por remover a camada manchada superficial (Attia et al., 2015; Patil et al., 2015; Young et al., 2015). A abrasividade das cerdas da escova também pode promover a remoção dessa camada, justificando o maior escurecimento dos subgrupos submetidos apenas à ação química do enxaguatório clareador ou a ação da água destilada, ambos não possuem a ação mecânica da escovação que contribui para a remoção da camada de pigmentos depositado sobre a superfície dentária durante a imersão no caldo de manchamento nos ciclos.

Três subgrupos foram significativamente diferente dos demais e semelhantes entre si: PC-Lis, PC-AG e PC-E, cujos valores de  $\Delta b^*$  foram maiores, significando que houve um escurecimento dos espécimes. Os subgrupos dos dentifrícios clareadores possuem peróxido de hidrogênio, *blue covarine* ou abrasivos e sua composição o que pode proporcionar o clareamento por diversos mecanismos de ação associados à ação mecânica da escova dental, o subgrupo PC-Conv, apesar de não conter nenhum componente com ação clareadora, possui abrasivos

de menor granulação em sua composição o que pode nos levar a concluir que o subgrupo PC-E, apesar de ter a ação mecânica da escova dental, não possui nenhum agente químico ou abrasivo que possa proporcionar a remoção de pigmentos superficiais assim como ocorreu nos subgrupos PC-EConv, PC-EAbras, PC-EPerox e PC-EOpt.

O grupo não clareado, a análise dos resultados mostrou que nenhum dos agentes clareadores foi diferente estatisticamente quanto á alteração de cor, foram semelhantes também ao grupo EConv e E. O subgrupo em que se observou o maior valor para  $\Delta$ Eab\* foi o AG, porém, ao analisarmos os valores de  $\Delta$ b, observamos que para o grupo AG, o  $\Delta$ b\* foi positivo, significando que houve escurecimento dos espécimes deste subgrupo. Os resultados da análise dos valores de  $\Delta$ b\* mostraram que os subgrupos AG e E não clarearam. Podemos atribuir o clareamento dos demais subgrupos à ação química dos agentes clareadores de venda livre e do dentifrício convencional assim como outros estudos podem confirmar a eficácia clareadora de tais agentes (Joiner et al., 2008a; Demarco et al., 2009; Alshara et al., 2014; Jaime et al., 2014; Soares et al., 2014; Patil et al., 2015; Young et al., 2015).

A microdureza foi semelhante em quase todos os subgrupos após 12 semanas de tratamento clareador com os agentes de venda livre. No grupo EConv, houve um aumento significante e diferente estatisticamente dos outros subgrupos. Apesar de todos os subgrupos estarem em constante contato com a saliva artificial durante o armazenamento e do efeito remineralizados do fluoreto de sódio presente na composição dos dentifrícios.(Ionta et al., 2014) O mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio, *blue covarine* ou sílica, componentes dos agentes clareadores de venda livre, pode promover a diminuição de minerais do esmalte, que é compensada pela remineralização através da saliva artificial e do fluoreto de sódio.

A presença de Peróxido de Carbamida a 1% em dentifrícios clareadores não fornecem o clareamento por si próprios. Esse efeito é potencializado pela associação de partículas abrasivas como a sílica hidratada. De acordo com estudos anteriores (Joiner, 2010; Horn et al., 2014), esses dentifrícios mostram melhores resultados em clareamento dental e remoção de manchas extrínsecas do que os dentifrícios que contém apenas a sílica hidratada em sua composição. No presente estudo o dentifrício com Peróxido de Carbamida a 1% apresentou resultados semelhantes à pasta convencional. Durante a escovação dental, as partículas

abrasivas ficam presas entre as cerdas da escova e a superfície dental. Como a partícula abrasiva é mais dura do que os pigmentos, estes podem ser removidos, deixando a superfície do dente limpa.(Joiner et al., 2004b) Portanto, o mecanismo dos abrasivos influencia principalmente na remoção de manchas extrínsecas, não influenciando muito na alteração do manchamento intrínseco ou na cor natural do dente.

Além da presença de sílica na composição de alguns dentifrícios, que pode contribuir para a remoção de manchas extrínsecas, a *blue covarine* pode auxiliar no clareamento dental. É um agente de cor azul cujo efeito clareador está baseado na deposição de uma fina camada de pigmentação azul sobre a superfície de esmalte, modificando a percepção da cor do dente (Bortolatto et al., 2016). Muitos estudos mostram a mudança do amarelo para o azul (redução no valor da coordenada b\*) em dentes tratados com dentifrícios que contém *blue covarine* (Collins et al., 2008; Joiner, 2009; Pintado-Palomino et al., 2016). A deposição dessa substância é relativamente uniforme na superfície do esmalte dental e tem boa retenção no dente, dando um efeito clareador óptico ao esmalte do dente.(Joiner et al., 2008b)

Os resultados da comparação dos subgrupos de agentes clareadores de venda livre (Lis, EPerox, EAbras e EOpt) sem clareamento prévio com o subgrupo clareado PC-AG como controle mostraram que o último foi diferente significativamente em relação aos demais, tanto para os valores de  $\Delta$ Eab, quanto para os valores de  $\Delta$ b, sendo este subgrupo que apresentou maior clareamento. Isso significa que apesar da presença de agentes clareadores ou abrasivos na composição dos dentifrícios e enxaguatório clareadores, a eficácia clareadora dos mesmos não é maior ou igual à eficácia clareadora do clareamento caseiro com Peróxido de Carbamida a 10%. Tal fato concorda com que já foi afirmado em outros estudos realizados anteriormente (Torres et al., 2013; Jaime et al., 2014; Soares et al., 2014; Dantas et al., 2015; Karadas, Duymus, 2015).

Apesar de crescente o número de estudos com os agentes clareadores de venda livre, ainda há necessidade de maiores informações sobre o desempenho de tais produtos *in vivo*, principalmente de novos produtos que são lançados no mercado com diferentes mecanismos de clareamento dental.

## 7 CONCLUSÃO

Com base na metodologia empregada e de acordo com a análise estatística dos resultados, conclui-se que:

- a) a associação dos agentes clareadores de venda livre não intensificou o efeito clareador do peróxido de carbamida a 10% e não modificaram a fluorescência nem a dureza do esmalte dentário;
- b) o uso de agentes clareadores de venda livre após o período de clareamento com o peróxido de carbamida a 10% não aumentou o clareamento obtido previamente, mas auxiliaram no aumento da longevidade do tratamento, e não promoveram modificações na fluorescência e na dureza do esmalte;
- c) todos os agentes clareadores de venda livre promoveram o clareamento dental de maneira semelhante entre si, assim como n\u00e3o alteraram sua fluoresc\u00e9ncia e n\u00e3o causaram desmineraliza\u00e7\u00e3o do esmalte;
- d) embora promovam o clareamento dental, os agentes clareadores de venda livre n\u00e3o alcan\u00e7aram os resultados do clareamento com per\u00e1xido de carbamida a 10%.

## **REFERÊNCIAS\***

Alaghemand H, Hashemi Kamangar SS, Zarenegad N, Tabari N, Abedi H, Khafri S. In-vitro effect of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate on enamel susceptibility to staining by tea during bleaching treatment. J Dent. 2015 Aug;12(8):607-13. Pubmed PMID: 27123021

Alshara S, Lippert F, Eckert GJ, Hara AT. Effectiveness and mode of action of whitening dentifrices on enamel extrinsic stains. Clin Oral Investig. 2014;18(2):563-9; doi: 18(2):563-9. 10.1007/s00784-013-0981-8 Pubmed PMID: 23616153

American Dental Association (ADA). Professional product review. in-office whitening agents: laboratory testing methods. In-Office Whitening Agents: Laboratory Testing Methods. 2008;3(2):1-11.

Arends J, Jongebloed W. Crystallites dimensions of enamel. J Biol Buccale. 1978;6(3):161-71. Pubmed PMID: 282286

Armstrong WG. Fluorescence characteristics of sound and carious human dentine preparations. Arch Oral Biol. 1963;8(2):79-90. doi: 10.1016/0003-9969(63)90045-1

Attia ML, Cavalli V, do Espirito Santo AM, Martin AA, D'Arce MB, Aguiar FH, et al. Effects of bleaching agents combined with regular and whitening toothpastes on surface roughness and mineral content of enamel. Photomed Laser Surg. 2015 Jul;33(7):378-83. doi: 10.1089/pho.2014.3835 Pubmed PMID: 26154726

Bazzi JZ, Bindo MJ, Rached RN, Mazur RF, Vieira S, de Souza EM. The effect of athome bleaching and toothbrushing on removal of coffee and cigarette smoke stains and color stability of enamel. J Am Dent Assoc. 2012 May;143(5):e1-7. Pubmed PMID: 22547725

Benedict HC. A note on the fluorescence of teeth in ultra-violet rays. Science. 1928 Apr 27;67(1739):442. doi:10.1126/science.67.1739.442 Pubmed PMID: 17731214

Bengel WM. Digital photography and the assessment of therapeutic results after bleaching procedures. J Esthet Restor Dent. 2003;15 Suppl 1:S21-32; discussion S. Pubmed PMID: 15000901

Berga Caballero A, Forner Navarro L, Amengual Lorenzo J. In vivo evaluation of the effects of 10% carbamide peroxide and 3.5% hydrogen peroxide on the enamel surface. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007 Sep;12(5):E404-7. Pubmed PMID: 17767109

Bhutani N, Venigalla BS, Patil JP, Singh TV, Jyotsna SV, Jain A. Evaluation of bleaching efficacy of 37.5% hydrogen peroxide on human teeth using different

<sup>\*</sup> Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jan 2016]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\_requirements.html

modes of activations: an in vitro study. J Conserv Dent: JCD. 2016 May-Jun;19(3):259-63. doi: 10.4103/0972-0707.181944 Pubmed PMID: 27217641

Bolay S, Cakir FY, Gurgan S. Effects of toothbrushing with fluoride abrasive and whitening dentifrices on both unbleached and bleached human enamel surface in terms of roughness and hardness: an in vitro study. J Contemp Dent Pract. 2012 Sep 01;13(5):584-9. Pubmed PMID: 23250157

Bortolatto JF, Dantas AA, Roncolato A, Merchan H, Floros MC, Kuga MC, et al. Does a toothpaste containing blue covarine have any effect on bleached teeth? an in vitro, randomized and blinded study. Braz Oral Res. 2016;30. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0033 Epub 2016 Mar 8. Pubmed PMID: 26981757

Carey CM. Tooth whitening: what we now know. J Evid Based Dent Pract. 2014 Jun;14 Suppl:70-6. doi: 10.1016/j.jebdp.2014.02.006 Pubmed PMID: 24929591

Collins LZ, Naeeni M, Platten SM. Instant tooth whitening from a silica toothpaste containing blue covarine. J Dent. 2008;36 Suppl 1:S21-5. Pubmed PMID: 18646366

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

Dantas AA, Bortolatto JF, Roncolato A, Merchan H, Floros MC, Kuga MC, et al. Can a bleaching toothpaste containing Blue Covarine demonstrate the same bleaching as conventional techniques? an in vitro, randomized and blinded study. J Appl Oral Sci. 2015 Nov-Dec;23(6):609-13. doi: 10.1590/1678-775720150268 Pubmed PMID: 26814462

de Almeida LC, Soares DG, Azevedo FA, Gallinari Mde O, Costa CA, dos Santos PH, et al. At-Home Bleaching: Color Alteration, Hydrogen Peroxide Diffusion and Cytotoxicity. Braz Dent J. 2015 Jul-Aug;26(4):378-83. doi: 10.1590/0103-6440201300380 Pubmed PMID: 26312976

Demarco FF, Meireles SS, Masotti AS. Over-the-counter whitening agents: a concise review. Braz Oral Res. 2009;23 Suppl 1:64-70. Pubmed PMID: 19838560

Foreman P. The excitation and emission spectra of fluorescent components of human dentine. Arch Oral Biol. 1980;25(10):641-7. doi: 10.1016/0003-9969(80)90094-1 Pubmed PMID: 6940521

Freccia WF, Peters DD, Lorton L, Bernier WE. An in vitro comparison of nonvital bleaching techniques in the discolored tooth. J Endod. 1982 Feb;8(2):70-7. doi: 10.1016/S0099-2399(82)80261-6 Pubmed PMID: 6950018

Ghanbarzadeh M, Ahrari F, Akbari M, Hamzei H. Microhardness of demineralized enamel following home bleaching and laser-assisted in office bleaching. J Clin Exp Dent. 2015;7(3):e405. doi: 10.4317/jced.51705 Pubmed PMID: 26330939

Ghassemi A, Hooper W, Vorwerk L, Domke T, DeSciscio P, Nathoo S. Effectiveness of a new dentifrice with baking soda and peroxide in removing extrinsic stain and whitening teeth. J Clin Dent. 2012;23(3):86-91. Pubmed PMID: 23210419

Gohring TN, Zehnder M, Sener B, Schmidlin PR. In vitro microleakage of adhesive-sealed dentin with lactic acid and saliva exposure: a radio-isotope analysis. J Dent. 2004 Mar;32(3):235-40. doi: 10.1016/j.jdent.2003.11.003 Pubmed PMID: 15001289

Goo DH, Kwon TY, Nam SH, Kim HJ, Kim KH, Kim YJ. The efficiency of 10% carbamide peroxide gel on dental enamel. Dent Mater J. 2004 Dec;23(4):522-7. Pubmed PMID: 15688714

Götz H, Duschner H, White DJ, Klukowska MA. Effects of elevated hydrogen peroxide 'strip'bleaching on surface and subsurface enamel including subsurface histomorphology, micro-chemical composition and fluorescence changes. J Dent. 2007;35(6):457-66. doi: 10.3109/00016357.2012.696693 Pubmed PMID: 22746180

Grobler SR, Majeed A, Hayward R, Rossouw RJ, Moola MH, van WKTJ. A clinical study of the effectiveness of two different 10% carbamide peroxide bleaching products: a 6-month followup. Int J Dent. 2011;2011:167525. doi: 10.1155/2011/167525 Pubmed PMID: 21747855

Hardman PK, Moore DL, Petteway GH. Stability of hydrogen peroxide as a bleaching agent. Gen Dent. 1985 Mar-Apr;33(2):121-2. Pubmed PMID: 3858201

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

Horn BA, Bittencourt BF, Gomes OM, Farhat PA. Clinical evaluation of the whitening effect of over-the-counter dentifrices on vital teeth. Braz Dent J. 2014;25(3):203-6. Pubmed PMID: 25252254

International Organization for Standardization. ISO 28642: Dentistry - Guidance on colour measurement. Genebra: International Organization for Standardization; 2011

Ionta FQ, Mendonca FL, de Oliveira GC, de Alencar CR, Honorio HM, Magalhaes AC, et al. In vitro assessment of artificial saliva formulations on initial enamel erosion remineralization. J Dent. 2014 Feb;42(2):175-9. doi: 10.1016/j.jdent.2013.11.009 Pubmed PMID: 24269764

Jaime IM, Franca FM, Basting RT, Turssi CP, Amaral FL. Efficacy of hydrogen-peroxide-based mouthwash in altering enamel color. Am J Dent. 2014 Feb;27(1):47-50. Pubmed PMID: 24902405

Johnston WM, Kao EC. Assessment of appearance match by visual observation and clinical colorimetry. J Dent Res. 1989 May;68(5):819-22. Pubmed PMID: 2715476

Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. J Dent. 2006 Aug;34(7):412-9. doi: 10.1016/j.jdent.2006a.02.002 Pubmed PMID: 16569473

Joiner A. Review of the extrinsic stain removal and enamel/dentine abrasion by a calcium carbonate and perlite containing whitening toothpaste. International dental journal. 2006b Aug;56(4):175-80. Pubmed PMID: 16972390

Joiner A. A silica toothpaste containing blue covarine: a new technological breakthrough in whitening. Int Dent J. 2009 Oct;59(5):284-8. Pubmed PMID: 19998663

Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. J Dent. 2004a;32 Suppl 1:3-12. Pubmed PMID: 14738829

Joiner A. Whitening toothpastes: a review of the literature. J Dent. 2010;38 Suppl 2:e17-24. doi: 10.1016/j.jdent.2010.05.017 Pubmed PMID: 20562012

Joiner A, Hopkinson I, Deng Y, Westland S. A review of tooth colour and whiteness. J Dent. 2008a;36 Suppl 1:S2-7. Pubmed PMID: 18646363

Joiner A, Jones N, Raven S. Investigation of factors influencing stain formation utilizing an in situ model. Adv Dent Res. 1995;9(4):471-6. Pubmed PMID:

Joiner A, Philpotts CJ, Ashcroft AT, Laucello M, Salvaderi A. In vitro cleaning, abrasion and fluoride efficacy of a new silica based whitening toothpaste containing blue covarine. J Dent. 2008b;36 Suppl 1:S32-7. Pubmed PMID: 18646368

Joiner A, Pickles MJ, Tanner C, Weader E, Doyle P. An in situ model to study the toothpaste abrasion of enamel. J Clin Periodontol. 2004b Jun;31(6):434-8. doi: 10.1111/j.1600-051X.2004.00497.x Pubmed PMID: 15142211

Joiner A, Thakker G, Cooper Y. Evaluation of a 6% hydrogen peroxide tooth whitening gel on enamel and dentine microhardness in vitro. J Dent. 2004c;32 Suppl 1:27-34. Pubmed PMID: 14738832

Karadas M, Duymus ZY. In Vitro Evaluation of the Efficacy of Different Over-the-Counter Products on Tooth Whitening. Braz Dent J. 2015 Jul-Aug;26(4):373-7. doi: 10.1590/0103-64402013x0111 Pubmed PMID: 26312975

Kaur S, Makkar S, Kumar R, Pasricha S, Gupta P. Comparative evaluation of surface properties of enamel and different esthetic restorative materials under erosive and abrasive challenges: an in vitro study. Indian J Dent. 2015;6(4):172. doi: 10.4103/0975-962X.165047 Pubmed PMID: 4691985

Kwon SR, Wertz PW. Review of the Mechanism of Tooth Whitening. J Esthet Restor Dent. 2015 Sep-Oct;27(5):240-57. doi: 10.1111/jerd.12152 Pubmed PMID: 25969131

Leonard Jr RH, Bentley C, Eagle JC, Garland GE. Nightguard vital bleaching: a long-term study on efficacy, shade retention, side effects, and patients' perceptions. J Esthet Restor Dent. 2001;13(6):357. Pubmed PMID:

Leonard RH, Sharma A, Haywood VB. Use of different concentrations of carbamide peroxide for bleaching teeth: an in vitro study. Quintessence Int. 1998 Aug;29(8):503-7. Pubmed PMID: 9807130

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

Majeed A, Farooq I, Grobler SR, Moola MH. In vitro evaluation of variances between real and declared concentration of hydrogen peroxide in various tooth-whitening products. Acta Odontol Scand. 2015 Jul;73(5):387-90. doi: 10.3109/00016357.2014.971865 Pubmed PMID: 25342283

Mamede A. Comunicação precisa da cor: controle de qualidade da percepção à instrumentação [internet]. Osaka (Japan): Konica Minolta. [acesso em 2016 Jun 10]; 1998; [aproximadamente 63 p.]. Disponível em: https://pt.scribd.com/doc/316786730/Comunicacao-Precisa-Da-Cor-Konika-Minolta

Meireles SS, dos Santos Ida S, Della Bona A, Demarco FF. A double-blind randomized controlled clinical trial of 10 percent versus 16 percent carbamide peroxide tooth-bleaching agents: one-year follow-up. J Am Dent Assoc. 2009 Sep;140(9):1109-17. Pubmed PMID: 19723943

Meyers IA, McQueen MJ, Harbrow D, Seymour GJ. The surface effect of dentifrices. Aust Dent J. 2000 Jun;45(2):118-24. Pubmed PMID: 10925508

Moore M, Hasler-Nguyen N, Saroea G. In vitro tooth whitening effect of two medicated chewing gums compared to a whitening gum and saliva. BMC oral health. 2008 Aug 11;8:23. doi: 10.1186/1472-6831-8-23 Pubmed PMID: 18694488

Moosavi H, Darvishzadeh F. The Influence of Post Bleaching Treatments in Stain Absorption and Microhardness. Open Dent J. 2016;10:69. doi: 10.2174/1874210616021000069 Pubmed PMID: 27099635

Patil PA, Ankola AV, Hebbal MI, Patil AC. Comparison of effectiveness of abrasive and enzymatic action of whitening toothpastes in removal of extrinsic stains - a clinical trial. Int J Dent Hyg. 2015 Feb;13(1):25-9. doi: 10.1111/idh.12090 Pubmed PMID: 25046241

Pintado-Palomino K, Vasconcelos CV, Silva RJ, Fressatti AL, Motta BJ, Pires-de-Souza FC, et al. Effect of whitening dentifrices: a double-blind randomized controlled trial. Braz Oral Res. 2016 Oct 10;30(1):e82. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0082 Pubmed PMID: 27737352

Potgieter E, Osman Y, Grobler SR. The effect of three whitening oral rinses on enamel micro-hardness. SADJ. 2014 May;69(4):152, 154-6. Pubmed PMID: 24984388

Salomão D, Santos D, Nogueira R, Palma-Dibb R, Geraldo-Martins V. Acid demineralization susceptibility of dental enamel submitted to different bleaching techniques and fluoridation regimens. Oper Dent. 2014;39(4):E178-E85. doi: 10.2341/13-140 Pubmed PMID: 24673418

Seghi RR, Hewlett ER, Kim J. Visual and instrumental colorimetric assessments of small color differences on translucent dental porcelain. J Dent Res. 1989 Dec;68(12):1760-4. Pubmed PMID: 2600257

Soares C, do Amaral FLB, Mesquita MF, Franca FMG, Basting RT, Turssi CP. Toothpastes containing abrasive and chemical whitening agents: efficacy in reducing extrinsic dental staining. Gen Dent. 2014;63(6):e24-8. Pubmed PMID: 26545284

Spitzer D, ten Bosch JJ. Luminescence quantum yields of sound and carious dental enamel. Calcif Tissue Res. 1977 Dec 29;24(3):249-51. Pubmed PMID: 597765

Stookey GK, Burkhard TA, Schemehorn BR. In vitro removal of stain with dentifrices. J Dent Res. 1982 Nov;61(11):1236-9. Pubmed PMID: 6958719

Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. The bleaching depth of a 35% hydrogen peroxide based in-office product: a study in vitro. J Dent. 2005 Jan;33(1):33-40. doi: 10.1016/j.jdent.2004.07.008 Pubmed PMID: 15652166

Sulieman M, Addy M, Rees JS. Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching. J Dent. 2003 Aug;31(6):415-22. doi: S0300571203000691 [pii] Pubmed PMID: 12878024

Swift EJ, Jr., May KN, Jr., Wilder AD, Jr., Heymann HO, Bayne SC. Two-year clinical evaluation of tooth whitening using an at-home bleaching system. J Esthet Dent. 1999;11(1):36-42. Pubmed PMID: 10337288

Tam L. Clinical trial of three 10% carbamide peroxide bleaching products. J Can Dent Assoc. 1999 Apr;65(4):201-5. Pubmed PMID: 10224721

Teruel Jde D, Alcolea A, Hernandez A, Ruiz AJ. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. Arch Oral Biol. 2015 May;60(5):768-75. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.01.014 Pubmed PMID: 25766469

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 CR, Perote LC, 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-I Pubmed PMID: 22770430

Torres CR, Wiegand A, Sener B, Attin T. Influence of chemical activation of a 35% hydrogen peroxide bleaching gel on its penetration and efficacy--in vitro study. J

Dent. 2010 Oct;38(10):838-46. doi: 10.1016/j.jdent.2010.07.002 Pubmed PMID: 20633597

Vieira-Junior WF, Lima DA, Tabchoury CP, Ambrosano GM, Aguiar FH, Lovadino JR. Effect of toothpaste application prior to dental bleaching on whitening effectiveness and enamel properties. Oper Dent. 2016 Jan-Feb;41(1):E29-38. doi: 10.2341/15-042-L Pubmed PMID: 26449589

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.4800959a Pubmed PMID: 11325156

Whittaker DK, Green RM, Edmunds DH. Structural characteristics of bovine enamel. Caries Res. 1988;22(6):327-36. doi: 10.1159/000261132 Pubmed PMID: 3214846

Wiegand A, Otto YA, Attin T. In vitro evaluation of toothbrushing abrasion of differently bleached bovine enamel. Am J Dent. 2004 Dec;17(6):412-6. Pubmed PMID: 15724752

Wozniak WT, Naleway CA, Gonzalez E, Schemehorn BR, Stookey GK. Use of an in vitro model to assess the effects of APF gel treatment on the staining potential of dental porcelain. Dent Mater. 1991 Oct;7(4):263-7. doi: 10.1016/S0109-5641(05)80026-0 Pubmed PMID: 1726090

Young S, Parkinson C, Hall C, Wang N, Milleman JL, Milleman KR. A randomized clinical study investigating the stain-removal potential of two experimental dentifrices. J Clin Dent. 2015;26(4):96-103. Pubmed PMID: 26856015