

MICHELE MAURICIO MANARELLI

Efeito do uso de vernizes com alta e baixa concentração de fluoreto suplementado com trimetafosfato sobre a erosão e abrasão do esmalte dentário. Estudo *in vitro*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção de título de Mestre em Ciência Odontológica - Área Saúde Bucal da Criança.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem

ARAÇATUBA – SP

2011

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

M266e	Manarelli, Michele Mauricio. Efeito do uso de vernizes com alta e baixa concentração de fluoreto suplementado com trimetafosfato sobre a erosão e abrasão do esmalte dentário bovino : estudo in vitro / Michele Mauricio Manarelli. - Araçatuba : [s.n.], 2011 60 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia Orientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem 1. Erosão dentária2. Abrasão dentária 3. Esmalte dentário Black D27 CDD 617.645
-------	--

COMISSÃO EXAMINADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem - Orientador, Professor Adjunto do Departamento de Odontologia Infantil e Social, Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia - Araçatuba, UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba.

Profa. Dra. Denise Pedrini Ostini - Professora Adjunto do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Disciplina de Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia - Araçatuba, UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba.

Prof. Dr. Heitor Marques Honório - Professor Adjunto do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva, Disciplina de Metodologia Científica e Estatística da Faculdade de Odontologia – Bauru, USP - Universidade de São Paulo, Bauru.

*"A tarefa essencial do professor é despertar a alegria de trabalhar e de conhecer."
(Albert Einstein)*

DADOS CURRICULARES

MICHELE MAURICIO MANARELLI

Nascimento	02.01.1986 – Araçatuba - SP
Filiação	Jorge Luis Manarelli Ieda Maria Mauricio Manarelli
2005/2008	Curso de Graduação em Odontologia na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.
2009/2011	Curso de Pós-Graduação em ciência odontológica - área saúde bucal da criança, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.
Associações	CRO - Conselho Regional de Odontologia SBPqO - Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus; pois, sem Ele, não somos nada. Deus, um ser cuja única definição é que Ele está além do poder do entendimento humano.

Aos meus pais, pelo esforço, dedicação e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas. Pela educação que vocês me deram e pela formação que me proporcionaram.

À minha irmã, nossos caminhos são diferentes. Mas, às vezes, eles se cruzam, então nesses momentos voltamos a caminhar juntas e na mesma direção. Amo muito você.

AGRADECIMIENTOS ESPECIAIS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, por compartilhar seus conhecimentos, por estar sempre à disposição; pela paciência, respeitando os meus limites; pela amizade, orientação, confiança; e acima de tudo, por seu exemplo de responsabilidade, competência e determinação com a pesquisa.

À Prof^a. Dr^a. Kikue Takebayashi Sassaki, pessoa de admirável competência. Obrigado pela disponibilidade, atenção e pelo admirável exemplo de profissionalismo.

À Prof^a. Dr^a. Cleide Cristina Rodrigues Martinhon pela disponibilidade e conselhos que foram importantes para a concretização deste trabalho.

AGRADECIMIENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba, na pessoa dos professores Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé, digníssimo Diretor, e Dr^a. Ana Maria Pires Souphia, digníssima Vice-Diretora.

Ao Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba –UNESP.

Aos docentes da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP, Prof. Dr. Célio Percinoto, Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Prof. Dr. Robson Frederico Cunha, Prof^a. Dr^a. Rosângela dos Santos Nery, Prof^a. Dr^a. Sandra M. H. C. Ávila de Aguiar, exemplos de dedicação, pela agradável convivência e conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria, Maria dos Santos Ferreira Fernandes e Mario Luis da Silva, pelo auxílio indispensável e pela convivência agradável.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique dos Santos (Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese Dentária, FOA-UNESP), que gentilmente nos cedeu o rugosímetro para as análises deste trabalho.

À todos os colegas do curso de Pós-Graduação em Odontopediatria (Mestrado e Doutorado) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pela convivência carinhosa.

Aos amigos do Laboratório que sempre incentivaram, ajudaram e compreenderam o esforço na realização desse trabalho.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da UNESP, pela atenção e disponibilidade com que sempre me receberam.

Ao Diogo e Valéria, da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba- UNESP, pelo profissionalismo, atenção e, sobretudo, pela paciência.

Aos demais professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

Ao Frigorífico JBS, que permitiu a coleta dos dentes bovinos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de recursos que possibilitaram a realização deste Curso de Mestrado.

À todos aqueles que, de certa forma, contribuíram para a elaboração e conclusão deste trabalho.

ΕΠΙΓΡΑΦΕ

“Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra! Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso”.

(Charles Chaplin)

SUMÁRIO

Resumo	20
Introdução	21
Material e Método	22
Resultados	25
Discussão	27
Referências	31
Anexos	39

RESUMO

MANARELLI, M.M. Efeito do uso de vernizes com alta e baixa concentração de fluoreto suplementado com trimetafosfato sobre a erosão e abrasão do esmalte dentário. Estudo *in vitro*. 2011. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2011.

Resumo

A proposta deste trabalho foi avaliar *in vitro* a ação de vernizes com diferentes concentrações de fluoretos e suplementado com trimetafosfato de sódio (TMP) sobre a erosão associada ou não à abrasão. Blocos de esmalte bovino foram selecionados e divididos em 12 grupos de acordo com o número de dias de tratamento (3 e 5 dias) e o tipo de verniz utilizado: placebo (sem flúor), NaF 5%, NaF 2,5%, NaF 2,5% TMP 3,5%, NaF 2,5% TMP 5%, NaF 2,5% TMP 10%. O desafio erosivo foi produzido com Sprite Zero[®] por 5 minutos (4x ao dia) e o erosivo/abrasivo pela escovação mecânica por 15 segundos. Após os desafios, determinou-se a dureza de superfície (SHf), o desgaste do esmalte (μm) e a dureza em secção longitudinal (ΔKHN). Os resultados foram submetidos a Análise de Variância e ao teste de Tukey ($p < 0,05$). Os vernizes com 2,5% de fluoreto e TMP (3,5; 5 e 10%) apresentaram os menores desgaste e perda de dureza (ΔKHN) do que os outros vernizes ($p < 0,05$), independente do desafio. Observou-se correlação positiva entre os resultados de desgaste e ΔKHN . Não houve relação dose-resposta entre a concentração do TMP e o desgaste e a dureza. Maiores desgaste foram observados com 5 dias de experimento e maiores valores de SHf com o desafio erosivo/abrasivo. Os vernizes placebo, NaF 2,5% e NaF 5% apresentaram desgastes similares ($p > 0,05$). Concluiu-se que os vernizes fluoretados suplementados com TMP apresentaram maior efeito contra a erosão e erosão/abrasão do esmalte e menor amolecimentos do esmalte.

Descritores: Fluoretos tópicos. Erosão dentária. Abrasão dentária. Esmalte dentário.

ABSTRACT

MANARELLI, M.M. Effect of the use of varnish with high and low concentration of fluoride supplemented with trimetaphosphate on the erosion and abrasion of the dental enamel. *In vitro* Study. 2011. Dissertation (Master's degree) – School of Dentistry, São Paulo State University, Araçatuba, 2011.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate *in vitro* the action of varnishes with different concentrations of fluoride and supplemented with trimetaphosphate (TMP) on erosion with or without abrasion. Bovine enamel blocks were selected and divided into 12 groups according to the number of treatment days (3 and 5 days) and type of varnish used: placebo (no fluoride), NaF 5%, NaF 2.5%, NaF 2.5% TMP 3.5%, NaF 2.5% TMP 5%, NaF 2.5% TMP 10%. The erosive challenge was made with Sprite Zero ® for 5 minutes (4x daily) and erosive / abrasive by mechanical brushing for 15 seconds. After the challenges, we determined the surface hardness (SHf), the enamel wear (μm) in longitudinal section and hardness (ΔKHN). The results were submitted to ANOVA and Tukey test ($p < 0.05$). The varnish fluoride and 2.5% TMP (3.5, 5 and 10%) showed the lowest wear loss and hardness (ΔKHN) than other coatings ($p < 0.05$), regardless of the challenge. We observed a positive correlation between the results of wear and ΔKHN . There was no dose-response relationship between the concentration of TMP and the wear and hardness. Greater wear was observed with 5 days of experiment and higher values of SHf with the challenge erosive / abrasive. The placebo varnish, NaF 2.5% and NaF 5% showed similar wear ($p > 0.05$). It was concluded that fluoride varnish supplemented with TMP had higher effect against erosion and erosion / abrasion of enamel and less softening of the enamel.

Key words: dental erosion, dental abrasion, topical fluorides, dental enamel.

Efeito do uso de vernizes com alta e baixa concentração de fluoreto suplementado com trimetafosfato sobre a erosão e abrasão do esmalte dentário. Estudo *in vitro*.

Manarelli MM., Moretto MJ., Sassaki KT., Martinhon CCR., Delbem ACB.

Faculdade de Odontologia, UNESP - Univ Estadual Paulista, Araçatuba, SP, Brasil.

Título curto: Vernizes suplementados com trimetafosfato sobre a erosão e abrasão.

Palavras chave: Vernizes. Esmalte dentário. Flúor. Fosfato. Desmineralização.

Correspondência:

Alberto Carlos Botazzo Delbem

Universidade Estadual Paulista – UNESP

Departamento de Odontologia Infantil e Social

Rua : José Bonifácio 1193

Araçatuba – SP - Brasil

CEP: 16015-050

Tel: (55) (18) 3636 3235

Fax : (55) (18) 3636 3332

Email: adelbem@foa.unesp.br

* De acordo com as instruções aos autores do periódico Caries Research, exceto idioma (Anexo A).

Resumo

A proposta deste trabalho foi avaliar *in vitro* a ação de vernizes com diferentes concentrações de fluoretos e suplementado com trimetafosfato de sódio (TMP) sobre a erosão associada ou não à abrasão. Após o polimento, 288 blocos de esmalte bovino (4x4mm) foram selecionados através da dureza de superfície (SHf) e divididos em 12 grupos de acordo com o número de dias de tratamento (3 e 5 dias) e o tipo de verniz utilizado: placebo (sem flúor), NaF 5%, NaF 2,5%, NaF 2,5% TMP 3,5%, NaF 2,5% TMP 5%, NaF 2,5% TMP 10%. Os blocos sofreram uma única aplicação de verniz no primeiro dia do estudo e foram submetidos ao desafio ácido com Sprite Zero® por 5 minutos 4 vezes ao dia. O processo de erosão/abrasão foi realizado em metade dos espécimes pela escovação mecânica durante 15 segundos. Após os desafios, analisou a dureza de superfície (SHf), teste de perfilometria para determinar o desgaste do esmalte (μm) e a dureza em secção longitudinal, para o cálculo da perda integrada da dureza (ΔKHN). Os resultados foram submetidos a Análise de Variância (Three-way) seguidos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Após desafio erosivo, a SHf foi maior nos grupos tratados com os vernizes fluoretados, independente do tempo do desafio erosivo. O desgaste foi similar entre os vernizes fluoretados quando comparado ao verniz placebo. Não houve relação dose-resposta entre a concentração do TMP nos vernizes e o desgaste e a dureza. Os vernizes com 2,5% de fluoreto e TMP (3,5; 5 e 10%) apresentaram os menores desgaste e perda de dureza (ΔKHN) do que os outros vernizes ($p < 0,05$). Os dados de ΔKHN e desgaste mostraram uma correlação positiva e significativa considerando os desafios: erosão 3 dias (valor de $r = 0,797$; $R^2 = 0,635$), erosão 5 dias (valor de $r = 0,821$; $R^2 = 0,674$), erosão/abrasão 3 dias (valor de $r = 0,815$; $R^2 = 0,664$) e erosão/abrasão 5 dias (valor de $r = 0,867$; $R^2 = 0,751$). Maiores desgaste foram observados com 5 dias de experimento e maiores valores de SHf com o desafio erosivo/abrasivo. Os vernizes placebo, NaF 2,5% e NaF 5% apresentaram desgastes similares ($p > 0,05$). Os dados de ΔKHN e desgaste mostraram uma correlação positiva. Concluiu-se que os vernizes fluoretados suplementados com TMP apresentaram maior efeito contra a erosão e erosão/abrasão do esmalte e menor amolecimentos do esmalte.

Introdução

A erosão dentária é um problema comum nas sociedades modernas, devido ao aumento do consumo de bebidas ácidas, como refrigerantes, bebidas esportivas, sucos e chás de frutas, que por sua vez, têm um elevado potencial para provocar a desmineralização dental [Souza et al., 2010 (a)]. O flúor tem sido utilizado como medida preventiva complementar para a erosão dentária, e apresenta melhores efeitos quando aplicado em altas concentrações [Sorvari et al., 1994]. Aplicações de agentes com alta concentração de fluoreto, como vernizes, soluções concentradas e géis têm demonstrado um aumento na resistência à abrasão e diminuição no desenvolvimento da erosão do esmalte *in vitro* e *in situ* [Ganss et al., 2004; Vieira et al., 2007].

Alguns produtos estão sendo adicionados em agentes fluoretados para diminuir a quantidade de flúor presente e melhorar ou igualar a efetividade do produto. Souza et al. [2010 (a)], concluiu que a adição de xilitol em vernizes experimentais é uma boa opção para reduzir parcialmente a erosão do esmalte, mas os efeitos desse tratamento é limitado. Wiegand et al. [2010], observou que o AmF reduziu a erosão do esmalte dentário, mas a irradiação com o laser de CO₂ não aumentou a sua eficácia, já o tetrafluoreto de titânio (TiF₄) apresentou apenas uma capacidade limitada para evitar a erosão, mas com a irradiação de CO₂ melhorou a sua eficácia para reduzir a perda de esmalte quando esse laser era aplicado durante a aplicação do tetrafluoreto de titânio, mas ambos não foram capazes de inibir a erosão.

Moretto et al. [2010], avaliou *in vitro* que o uso de dentifrício fluoretado 5000 µg F/g e dentifrício 500 µg F/g suplementado com TMP à 3% apresentaram os melhores resultados quando aplicados sobre o esmalte dentário submetido a desafios ácidos com ou sem escovação, entretanto, não foram capazes de inibir totalmente o desgaste pela erosão e erosão associada à abrasão.

Entretanto, devido à escassez de trabalhos na literatura que mostra a eficácia dos vernizes com diferentes concentrações de fluoretos suplementados com fosfato sobre a prevenção ou redução da lesão erosiva, seria interessante avaliar a ação destes vernizes sobre a erosão *in vitro* associada ou não à abrasão.

A proposição desse estudo *in vitro* foi avaliar a eficácia de vernizes fluoretados e suplementado com fosfato sobre erosão associada ou não à abrasão.

Material e Método

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi casualizado utilizando blocos de esmalte bovinos (Anexo B) previamente polidos (Anexo C) e selecionados através da análise de dureza de superfície (SHi) (Anexo I). Os blocos foram divididos em 24 grupos experimentais, distribuídos aleatoriamente, de acordo com os vernizes experimentais: verniz sem fluoreto (placebo), verniz com 5% de NaF, verniz com 2,5% de NaF, verniz com 2,5% de NaF associado à 3,5% de TMP, verniz com 2,5% de NaF associado à 5% de TMP e verniz com 2,5% de NaF associado à 10% de TMP. Os blocos foram isolados em suas metades com esmalte cosmético (Anexo D), sendo desta forma apenas metade de sua superfície exposta ao desafio ácido e ao tratamento. Os desafios erosivos foram de 3 dias (n=144) e 5 dias (n=144), após uma aplicação de uma fina camada de verniz, e produzido por refrigerante (Sprite Zero®, pH 2,8) (Anexo F). Metade de cada grupo (n=12) foi submetida apenas à erosão (Anexo G) e a outra metade (n=12) submetida à erosão associada à abrasão (Anexo H). Em seguida, determinou-se a dureza de superfície (SHf) do esmalte e em secção longitudinal (Anexo M), para o cálculo da perda integrada de dureza (Δ KHN) e a perfilometria (Anexo K), que mede o desgaste (μ m) sofrido pelo esmalte após os desafios.

Formulação e Dosagem de F dos Vernizes

Todos vernizes com pH neutro foram manipulados pela FGM Produtos Odontológicos (Joinville, SC, Brasil), por solicitação e orientação dos pesquisadores da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Unesp, com os seguintes componentes: polímero formador de película (resina artificial), solvente (etanol), essência (sacarina) e água desmineralizada (q.s.q). A concentração de fluoreto (F) foi de 2,5% e 5% de NaF. Foi adicionado ao verniz com 2,5% de NaF um sal de fosfato (Trimetafosfato de sódio – TMP) nas concentrações de 3,5; 5 e 10%. Será preparado também um verniz sem fluoreto e fosfato (placebo).

Para a dosagem de flúor nos vernizes foi utilizado um eletrodo específico combinado para íon flúor (9609 BN - Orion) e analisador de íons (Orion 720 A⁺), previamente calibrado com 05 padrões: 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 e 32,0 μ g F/mL. Os dados obtidos em mV foram convertidos em μ g F/mL.

Para a análise do flúor dos vernizes, foi pesado cerca de 0,015-0,020g de verniz de cada amostra (triplicata) em um balão de Erlenmeyer de vidro de 500 mL e adicionou 15 mL de clorofórmio para dissolver o verniz. Após o verniz ser dissolvido completamente, foi adicionados 285 mL de água destilada para recuperar o fluoreto de sódio, ou NaF. Os frascos foram agitados vigorosamente por 15 segundos para permitir que a água e clorofórmio se separem, o processo de agitação foi repetido mais duas vezes. A solução, então, está pronta para a determinação do flúor [Shen e Autio-Gold, 2002]. Posteriormente, 2 amostras de 0,5 mL foram retiradas e tamponadas com 0,5 mL de TISAB II [Delbem et al., 2003].

Obtenção e Preparo dos blocos de esmalte

Para a realização deste estudo, 288 blocos de esmalte (4x4mm) foram obtidos de dentes incisivos de bovinos mantidos em formol 2%, pH 7,0, durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental. Esses blocos tiveram suas superfícies de esmalte polidas seqüencialmente (lixa de granulação 400, 600 e 1200, Buehler, Lake Bluff, IL, USA), para remoção de ~200 µm da superfície do esmalte. Após polimento, foi determinado a dureza de superfície (SHi) do esmalte quando foram selecionados os blocos com dureza Knoop entre 330,0 e 370,0 Kg/mm². Para manter uma superfície de referência durante a determinação do desgaste do esmalte pela perfilometria, duas camadas de esmalte de unha foram aplicadas nas extremidades de cada bloco.

Tratamento e Desafio Erosivo

O tratamento dos blocos de esmalte foi realizado aplicando uma fina camada do verniz experimental, na área exposta do esmalte, utilizando microbrush. Após a aplicação dos vernizes: verniz sem fluoreto (placebo), verniz com 5% de NaF (NaF 5%), verniz com 2,5% de NaF (NaF 2,5%), verniz com 2,5% de NaF associado à 3,5% de TMP (NaF 2,5% TMP 3,5%), verniz com 2,5% de NaF associado à 5% de TMP (NaF 2,5% TMP 5%) e verniz com 2,5% de NaF associado à 10% de TMP (NaF 2,5% TMP 10%); os blocos foram mergulhados em solução de saliva artificial (solução remineralizadora). Decorridos 24 horas, o verniz foi removido com ajuda de lâmina de bisturi (nº15) e acetona [Bruun e Givskov, 1991], antes de serem submetidos aos desafios erosivos por 3 e 5 dias, mantidos a temperatura de 37° C.

Os desafios foram realizados em intervalos de 2 horas (nos intervalos e overnight os blocos ficaram em solução remineralizadora), com duração de 5 minutos, 4 vezes ao dia, mergulhando os blocos de esmalte no refrigerante Sprite Zero[®], pH 2,8 [Attin et al., 2001].

Os blocos destinados somente ao desafio erosivo foram submetidos apenas ao slurry sem escovação, somente os blocos destinados ao desafio erosivo/abrasão foram submetidos à escovação mecânica realizada na máquina MSet (Máquina de Simulação de Escovação), com velocidade de 5 movimentos por segundo, carga axial de 250g [Haselden et al., 1998], submersos em *slurry* de dentífrício placebo por 15 segundos (1:3 – peso:peso), 4 vezes ao dia.

Análise da dureza do esmalte

A dureza de superfície foi determinada utilizando-se o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos, acoplado ao Software para análise de imagem CAMS-WIN (NewAge Industries, USA). Cinco impressões, separadas entre si por uma distância de 100 μm , foram realizadas na região central de cada bloco (SH_i). Após a ciclagem de pH, realizaram-se outras cinco impressões (SH_f) distantes a 100 μm das impressões de SH_i. Para a análise da dureza em secção longitudinal, uma secção foi feita no centro de cada bloco e uma das metades incluída em resina acrílica e polida. Utilizou-se microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) e o software Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, USA), carga de 5 gramas por 10 segundos em aumento de 1000 vezes. Uma sequência de 8 impressões nas distâncias de 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 e 70 μm da superfície externa do esmalte foi realizada na área erodida e não erodida no centro do bloco. A área integrada da dureza (KHN x μm) da lesão até o esmalte hígido foi calculada utilizando a regra trapezoidal (GraphPad Prism, versão 3.02) e subtraída da área integrada da dureza do esmalte hígido obtendo a perda integrada da dureza (ΔKHN) [Spiguel et al., 2009].

Determinação do desgaste superficial

Para determinação do desgaste superficial utilizou-se o Rugosímetro SurfTest SJ 401 – Mitutoyo (Mitutoyo American Corporation), com uma ponta apalpadora

esférica, acoplada a uma unidade que tem como função processar e interagir as informações quantitativamente, fornecendo os resultados. O rugosímetro foi conectado a um microcomputador que processou e armazenou as informações pertinentes aos ensaios. Com o auxílio de um software específico do equipamento (Surfpack-SJ versão 1.6) além dos dados específicos de rugosidade, foram obtidos também os perfis das superfícies testadas, sendo estes importantes para a ilustração e quantificação do desgaste.

Para determinação da perfilometria superficial dos espécimes o rugosímetro foi ajustado para que a ponta apalpadora do aparelho realize um determinado percurso (L_t = limite de tracejamento = 2mm). Utilizou-se o parâmetro de filtragem ou minimização das ondas de superfície [ponto de corte (cut off)- L_c = 1,5mm]. O parâmetro R_a (μm) utilizado para obtenção foi a rugosidade aritmética que traduz o valor de todas as distâncias absolutas do perfil de rugosidade. A ponta do rugosímetro percorreu as superfícies dos espécimes passando por regiões de esmalte hígido (protegido) ao afetado. Após a determinação do perfil, a medida do desgaste foi obtida pela distância em micrômetros entre a linha média do gráfico correspondente à área protegida do espécime (superfície de referência) e o vale de desgaste. Para cada bloco foram feitas cinco medidas em diferentes áreas.

Análise Estatística

Para análise dos dados foi considerado como fator de variação o tipo de verniz experimental, o tipo e o tempo de desafio erosivo. Como variáveis, os valores de dureza e do desgaste superficial (μm). Após transformação (Log_{10}), os dados de desgaste apresentaram distribuição normal (Kolmogorov-Smirnov) e homogênea (Cochran). Os resultados de dureza de superfície (SH , SH_1 e ΔKH) e desgaste foram submetidos a análise de variância (Three-way) seguidos pelo teste de Tukey. Os dados de dureza em função da profundidade foram analisados de acordo com o tipo do desafio utilizando a análise de variância (Two-way) seguida pelo teste de Tukey. Os dados de SH_f , ΔKHN e desgaste foram submetidos ao teste de correlação de Pearson. Foi utilizado do programa estatístico GMC versão 2.0 com significância ao nível de 5%.

Resultados

Os valores médios (DP) de fluoreto ($\mu\text{g F/g}$) nos vernizes (placebo; NaF 5%; NaF 2,5%; NaF 2,5% TMP 3,5%; NaF 2,5% TMP 5%; NaF 2,5% TMP 10%) foram: 273,6 (39,7); 29.603,2 (1.253,5); 9.388,7 (456,1); 8.684,9 (450,8); 17.101,0 (1.260,8) e 9.175,1 (550,0). O valor médio (DP) inicial da dureza de superfície (SHi), considerando todos os grupos foi de 354,4 (13,4) Kg/mm^2 . O menor valor médio de SHi foi 343,5 (13,2) e o maior valor foi de 363,4 (9,1) ($p < 0,05$).

A Figura 1 mostra que a dureza de superfície (SHf) após desafio erosivo foi maior nos grupos tratados com os vernizes fluoretados diferindo do grupo placebo ($p < 0,05$), independente do tempo do desafio erosivo. A erosão e erosão/abrasão com o tempo de 5 dias apresentou maior amolecimento superficial quando comparado com o tempo de 3 dias ($p < 0,05$). A adição de TMP (3,5; 5 e 10%) aos vernizes fluoretados (2,5%) não apresentaram melhores resultados quando comparado aos outros vernizes fluoretados ($p > 0,05$).

Menores valores de desgaste foram observados com o desafio de 3 dias ($p < 0,05$) de acordo com a Figura 2. Os vernizes fluoretados 5% e 2,5% apresentaram resultados similares quando comparado ao verniz placebo ($p > 0,05$), nos tempos de 3 e 5 dias. Com a adição de TMP ao verniz fluoretado NaF 2,5%, o desgaste do esmalte foi menor quando comparado aos demais grupos ($p < 0,05$). Com o aumento da concentração do TMP nos vernizes não se observou uma relação dose-resposta.

A análise de ΔKHN mostra maiores valores no grupo placebo quando comparado aos demais grupos ($p < 0,05$). Os grupos NaF 5% e NaF 2,5% apresentaram área de lesão semelhantes ($p < 0,05$), independente do tipo e tempo do desafio (Figura 3). Os vernizes com TMP apresentaram os menores valores de ΔKHN quando comparados aos demais grupos ($p < 0,05$), porém foram semelhantes entre si ($p < 0,05$). A Figura 4 mostra o perfil da erosão e erosão/abrasão em função da profundidade de acordo com o tempo do desafio (3 e 5 dias). No desafio erosivo, a 10 μm de profundidade, os vernizes fluoretados com TMP apresentaram os menores valores quando comparado aos demais vernizes ($p < 0,05$). O verniz com NaF 5% apresentou maiores valores de dureza que o verniz com NaF 2,5% ($p < 0,05$). O grupo placebo apresentou os menores valores de dureza quando comparado aos demais grupos ($p < 0,05$), independente do tempo. No desafio

erosão/abrasão, a 10 µm de profundidade, o grupo placebo apresentou os menores valores de dureza ($p < 0,05$), o grupo NaF 5% e NaF 2,5% apresentaram resultados similares e melhores que o grupo placebo ($p < 0,05$). Os vernizes fluoretados com TMP mostraram os menores valores de dureza quando comparado aos demais grupos ($p < 0,05$). O aumento da concentração de TMP nos vernizes fluoretados não melhorou a ação dos produtos. As demais comparações estão descritas na Figura 4.

Os dados de ΔKHN e desgaste mostraram uma correlação positiva e significativa considerando os desafios: erosão 3 dias (valor de $r = 0,797$; $r^2 = 0,635$), erosão 5 dias (valor de $r = 0,821$; $r^2 = 0,674$), erosão/abrasão 3 dias (valor de $r = 0,815$; $r^2 = 0,664$) e erosão/abrasão 5 dias (valor de $r = 0,867$; $r^2 = 0,751$). Os resultados de SHf e desgaste apresentaram uma correlação fraca negativa e significativa considerando somente os desafios: erosão 3 dias (valor de $r = -0,372$; $r^2 = 0,138$) e erosão 5 dias (valor de $r = -0,533$; $r^2 = 0,285$).

Discussão

O verniz fluoretado aplicado profissionalmente é recomendado para indivíduos que apresentam quadros de erosão dentária com um dos objetivo de prevenir o desgaste [Wiegand e Attin, 2003]. Estudos que testaram o efeito de vernizes contendo fluoreto mostraram uma redução da erosão [Sorvari et al., 1994; Vieira et al., 2007] ou mostraram não produzir efeito sobre a erosão dentária [Magalhães et al., 2007]. O papel do fluoreto para prevenção do fenômeno erosivo ainda não foi totalmente esclarecido. Se considerarmos o fato de que o pH dos refrigerantes é inferior a quatro, nem o fluoreto incorporado ao dente, nem o presente no meio, afetariam o grau de subsaturação da solução com relação aos tecidos dentais [Fushida e Cury, 1999]. Porém em nosso estudo observamos que o uso de vernizes fluoretados pode reduzir os valores de perda de estrutura mineral significativamente, aumentando a proteção do esmalte contra os desafios erosivos.

A concentração de fluoreto no verniz com 5% de NaF (NaF 5%) apresentou uma quantidade acima do esperado (22.500 µg F/g) com uma variação de 31%. Os vernizes com menor concentração de fluoreto apresentaram uma variação média menor (19%), exceto o verniz NaF 2,5% TMP 5% que apresentou uma variação de 52%. Estas variações envolveram tanto problemas na extração do fluoreto dos vernizes quanto às produzidas pela manufatura dos produtos. Apesar de parecerem variações altas, como se trata de produtos de alta concentração há pouca influência

nos resultados finais do estudo. Isto pode ser verificado nos resultados de dureza (Figura 1, 3 e 4) e de desgaste da superfície (Figura 2) do esmalte.

Os dados da dureza de superfície mostraram que um esmalte erodido apresenta a superfície menos amolecida quando submetido ao tratamento com fluoreto [Eisenburger et al., 2003; Wiegand et al., 2007; Magalhães et al., 2007, 2008; Rios et al., 2006, 2008], entretanto não foi possível verificar diferenças entre as concentrações de fluoreto (Figura 1). As medidas da dureza de superfície parece não ser um bom indicador para análise de erosão [Magalhães et al., 2007, $r < 0,4$], principalmente quando o regime de tratamento é realizado uma vez. Porém, de acordo com Moretto et al. [2010], é possível verificar uma correlação negativa entre o desgaste e a dureza de superfície utilizando dentifrícios placebo, 1100 µg F/g e 5000 µg F/g ($r = -0,877$; $p < 0,001$). No presente estudo, apenas foi possível verificar que a presença do fluoreto atua propiciando um esmalte menos amolecido superficialmente (Figura 1), sem verificar relação dose-resposta. Os maiores valores da dureza de superfície com o desafio abrasivo é devido a ação da escovação que remove a superfície amolecida expondo um esmalte mais endurecido (Figura 1). Os maiores valores de desgaste para este desafio comprovam que houve a perda do esmalte mais amolecido (Figura 2).

Diante da pouca informação produzida pela análise da dureza de superfície, no presente estudo determinou-se a dureza em secção longitudinal utilizando carga de 5g e impressões a cada 5 µm [Delbem et al., 2010]. Esta análise permitiu a quantificação da desmineralização (Figura 3) e a visualização do perfil (Figura 4) produzida pelos desafios erosivos. Relação dose-resposta foi observado com os dados de dureza a 10 µm de profundidade no esmalte considerando os vernizes placebo, NaF 5% e NaF 2,5% (valor de $r = 0,965$; $r^2 = 0,865$), sendo possível detectar diferença de dureza entre os vernizes. Através desta metodologia foi possível observar uma correlação entre os resultados de Δ KHN e desgaste do esmalte.

Este menor desgaste (erosão e erosão/abrasão) foi relacionado aos menores valores de Δ KHN observados, principalmente, a 10 µm de profundidade no esmalte. A diferença na dureza do esmalte a 10 µm entre os grupos placebo, NaF 5% e NaF 2,5% (Figura 4) indica um efeito do fluoreto sobre o esmalte erodido (erosão e erosão/abrasão durante 3 dias). Se considerarmos os resultados de Δ KHN não há

diferença entre os vernizes NaF 5% e NaF 2,5%, independente do desafio e tempo erosivo (Figura 3). A ação anticárie dos produtos aplicados topicamente é produzida por depósitos de fluoreto de cálcio formados na superfície do esmalte [Saxegaard e Rolla, 1988; Ogaard, 2001]. Como o efeito foi superficial (10 μm) e os vernizes NaF 5% e NaF 2,5% apresentam resultados de dureza semelhantes na profundidades de 15, 20 e 25 μm (Figura 4), isto não foi suficiente para promover um menor desgaste durante os desafios erosivo e/ou abrasivo (Figura 2).

A adição de TMP ao verniz fluoretado (2,5% de NaF) reduziu o amolecimento do esmalte na área da lesão (ΔKHN) em 70% quando comparado ao verniz placebo e ao redor de 50% em relação ao vernizes fluoretados. A capacidade em manter um esmalte mais duro resultou em uma redução do desgaste em 72%, durante o desafio erosivo (3 e 5 dias), e em 63%, no desafio erosivo/abrasivo (Figura 2). Menor desgaste do esmalte foi encontrado por Moretto et al. [2010] quando associou o TMP a dentifrícios com 500 $\mu\text{g F/g}$ quando comparado a um dentifrício com 1100 $\mu\text{g F/g}$ em um desafio erosivo e erosivo/abrasivo estando correlacionado a uma menor dureza de superfície do esmalte. Esta maior eficácia pode estar relacionado a maior concentração de fluoreto, cálcio e fósforo presente no esmalte [Takeshita et al., 2009] quando há no produto o TMP. Souza et al. [2010 (b)] mostraram que a concentração de 500 $\mu\text{g F/mL}$ associado ao TMP pode apresentar 2 vezes mais fluoreto de cálcio depositado na estrutura da hidroxiapatita quando comparado a concentração de 1100 $\mu\text{g F/mL}$. De acordo com a literatura, o TMP pode interferir com a dissolução do esmalte reduzindo a perda mineral [Gonzalez et al., 1973; McGaughey e Stowell, 1977], bem como facilitar a difusão de cátions para o interior do esmalte [van Dijk et al., 1980]. Dados não publicados mostraram quantidades maiores de cálcio e fluoreto quando comparamos um dentifrício com 500 $\mu\text{g F/g}$ associado a 1% de TMP ao dentifrício 1100 $\mu\text{g F/g}$ (estudo *in situ*).

O aumento no tempo dos desafios (erosão e erosão/abrasão) resultou em maior perda de esmalte para o meio em todos os grupos estudados mantendo uma proporcionalidade com suas capacidades em reduzir o desgaste. Os vernizes fluoretados com TMP apresentaram 3 vezes menos perda de esmalte durante os desafios erosivos/abrasivos nos tempos de 3 e 5 dias (Figura 2) quando comparado aos outros grupos. No desafio erosivo de 3 dias, este efeito foi de 4 vezes. De acordo com os resultados de ΔKHN os vernizes fluoretados com TMP apresentaram uma área de esmalte 3 vezes mais dura quando comparado ao verniz placebo e 2

vezes quando comparado aos vernizes fluoretados. Assim, esta maior eficácia dos vernizes fluoretados com TMP deve-se apenas a um desafio de menores proporções.

Não foi possível observar diferenças estatísticas com o aumento na concentração de TMP nos vernizes fluoretados e correlação significativa só foi verificada entre o desgaste e ΔKHN com o desafio erosivo 3 dias (valor de $r = 0,724$; $r^2 = 0,524$) e 5 dias (valor de $r = 0,748$; $r^2 = 0,560$). O tipo de verniz utilizado (natural ou artificial) e os aditivos usados na manufatura dos vernizes fluoretados tem um efeito significativo na liberação do fluoreto [Shen e Autio-Gold, 2002] e pode influenciar a liberação do TMP. Dados não publicados mostraram que uma proporção entre ~1:1 a 4:1 de TMP/F, similar a observada no estudo de Takeshita et al. [2009], deve ser liberada para o meio para obter o efeito desejado. Nos vernizes esta proporção molar está entre 0,2:1 a 0,6:1, considerando o valor absoluto no produto. Assim, alguns estudos analisando a liberação de fluoreto e TMP devem ser realizados para determinar a proporção molar TMP/F que está sendo liberada para o meio com o objetivo de otimizar a formulação. De acordo com os resultados do presente estudo, pode-se concluir que os vernizes fluoretados suplementados com TMP apresentaram maior efeito contra a erosão e erosão/abrasão do esmalte e menor amolecimentos do esmalte superficial.

Agradecimentos

Agradecemos a FAPESP – Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado de São Paulo, pela bolsa de estudos. Agradecemos também à técnica de laboratório do Departamento de Odontologia Social e Infantil, Maria dos Santos Ferreira Fernandes, pela colaboração durante o desenvolvimento do trabalho.

Referências

- Attin T, Knofel S, Buchalla W, Tutuncu R: In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res* 2001;35:216-222.
- Bruun C, Givskov H: Formation of CaF_2 on sound enamel and in caries-like enamel lesions after different forms of fluoride applications *in vitro*. *Caries Res* 1991;25:96-100.
- Delbem AC, Sasaki KT, Castro AM, Pinto LMCP, Bergamaschi M: Avaliação do teor de flúor de soluções para bochechos e de géis e o risco de intoxicação aguda. *Rev ABO Nac* 2003;11:188-193.
- Delbem AC, Danelon M, Sasaki KT, Vieira AE, Takeshita EM, Brighenti FL, Rodrigues E: Effect of rinsing with water immediately after neutral gel and foam fluoride topical application on enamel remineralization: An in situ study. *Arch Oral Biol* 2010;55:913-918.
- Eisenburgerl M, Shellis RP, Addy M: Comparative study of wear of enamel induced by alternating and simultaneous combinations of abrasion and erosion in vitro. *Caries Res* 2003;37:450-455.
- Fushida CE, Cury JA: Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de Coca-Cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1999;13:127-134.
- Ganss C, Klimek J, Brune V, Schumann A: Effects of two fluoridation measures in erosion progression on enamel and dentine in situ. *Caries Res* 2004;38: 561-566.
- Gonzalez M, Jeansonne BG, Feagin FF: Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. *J Dent Res* 1973;52:261-266.
- Haselden CA, Hobkirk JA, Pearson GJ, Davies EH: A comparison between the wear resistance of three types of resin to three different dentifrices. *Oral Rehabil* 1998;25:335-339.
- Magalhães AC, Stancari FH, Rios D, Buzalaf MA: Effect of an experimental 4% titanium tetrafluoride varnish on dental erosion by a soft drink. *J Dent* 2007;35:858-861.
- Magalhães AC, Rios D, Moino AL, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA: Effect of different concentrations of fluoride in dentifrices on dentin erosion subjected or not to abrasion in situ/ex vivo. *Caries Res* 2008;42:112-116.

- McGaughey C, Stowell E: Effects of polyphosphates on the solubility and mineralization of HA: relevance of a rationale for anticaries activity. *J Dent Res* 1977;56:579-587.
- Moretto MJ, Magalhães AC, Sassaki KT, Delbem AC, Martinhon CC: Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. *Caries Res* 2010;44:135-140.
- Ögaard B: CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 2001;35:40-44.
- Rios D, Honorio HM, Magalhães AC, Buzalaf MA, Palma-Dibb RE, Machado MA, Silva SM: Influence of toothbrushing on enamel softening and abrasive wear of eroded bovine enamel: an in situ study. *Braz Oral Res* 2006;20:148-154.
- Rios D, Magalhães AC, Polo RO, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MA: The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. *J Am Dent Assoc* 2008;139:1652-1656.
- Saxegaard E, Rolla G: Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application *in vitro*. *Scand J Dent Res* 1988;96:523-535.
- Shen C, Autio-Gold J: Assessing fluoride concentration uniformity and fluoride release from three varnishes Assessing fluoride concentration uniformity. *J Am Dent Assoc* 2002;133:176-182.
- Sorvari R, Meurman JH, Alakuijala P, Frank RM: Effect of fluoride varnish and solution on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 1994;28:227-232.
- Souza JG, Rochel ID, Pereira AF, Silva TC, Rios D, Machado MA, Buzalaf MA, Magalhães AC: Effects of experimental xylitol varnishes and solutions on bovine enamel erosion *in vitro* . *J Oral Sci* 2010;52:553-559 (a).
- Souza DC, Hashizume LN, Eidelwein M, Maltz M: Effect of different frequencies of fluoride dentifrice and mouthrinse administration: an in situ study. *Braz Oral Res* 2010;24:388-393 (b).
- Spiguel MH, Tovo MF, Kramer PF, Franco KS, Alves KM, Delbem AC: Evaluation of laser fluorescence in the monitoring of the initial stage of the de-remineralization process: an in vitro and in situ study. *Caries Res* 2009;43:302-307.
- Takeshita EM, Castro LP, Sassaki KT, Delbem ACB: In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res* 2009;43:50-56.

- van Dijk JW, Borggreven JM, Driessens FC: The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel. Arch Oral Biol 1980;25:591-595.
- Vieira A, Jager DHJ, Ruben JL, Huysmans MC: Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. Caries Res 2007;41:61-67.
- Wiegand A, Attin T: Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions - a review. Oral Health Prev Dent 2003;1:245-253.
- Wiegand A, Schreier M, Attin T: Effect of different fluoridation regimes on the microhardness of bleached enamel. Oper Dent 2007;32:610-615
- Wiegand A, Magalhães AC, Navarro RS, Schmidlin PR, Rios D, Buzalaf MA, Attin T: Effect of titanium tetrafluoride and amine fluoride treatment combined with carbon dioxide laser irradiation on enamel and dentin erosion. Photomed Laser Surg 2010;28:219-226.

Legendas de figuras

Figura 1 - Médias ($n=12$) da dureza de superfície (SH_1) após desafio erosivo de acordo com o tempo de desmineralização e grupos. Barras verticais indicam desvio-padrão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p<0,05$).

Figura 2- Valores médios ($n=12$) do desgaste (μm) do esmalte após desafio erosivo de acordo com os grupos e o tempo. Barras verticais indicam desvio-padrão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p<0,05$).

Figura 3 – Representação gráfica de perda integrada da dureza (ΔKHN) de acordo com os grupos. Barras verticais mostram desvio-padrão. Letras distintas mostram diferença significativa em cada análise entre os grupos (Tukey, $p<0,05$).

Figura 4 – Representação gráfica das médias de dureza em função da profundidade de acordo com os desafios erosivos. Letras distintas indicam diferença estatística entre os valores de dureza (Tukey; $p<0,05$). Barras verticais mostram os desvios-padrão das médias.

(A) ¥: indica igualdade entre os grupos NaF 5%, NaF TMP3,5%, NaF TMP5% e NaF TMP10%, igualdade entre os grupos NaF 5% e NaF 2,5% (Tukey; $p<0,05$).

(B) §: indica igualdade entre os grupos Hígido, NaF TMP3,5%, NaF TMP5% e NaF TMP10%. ¥: indica que os grupos Hígido, NaF 5%, NaF 2,5%, NaF TMP3,5%, NaF TMP5% e NaF TMP10% são semelhantes estatisticamente (Tukey; $p<0,05$).

(C) Ψ : indica igualdade estatística entre os grupos Hígido, NaF TMP3,5% e NaF TMP5%; entre os grupos NaF 5%, NaF 2,5%, e NaF TMP10%. Ω : indica igualdade estatística entre os grupos Hígido, NaF 5%, NaF 2,5%, NaF TMP3,5%, NaF TMP5% e NaF TMP10% (Tukey; $p<0,05$).

(D) λ : indica igualdade estatística entre os grupos Hígido, NaF TMP3,5%, NaF TMP5% e NaF TMP10%; e Σ : indica igualdade estatística entre os grupos Hígido, NaF 5%, NaF 2,5%, NaF TMP3,5%, NaF TMP5% e NaF TMP10% (Tukey; $p<0,05$).

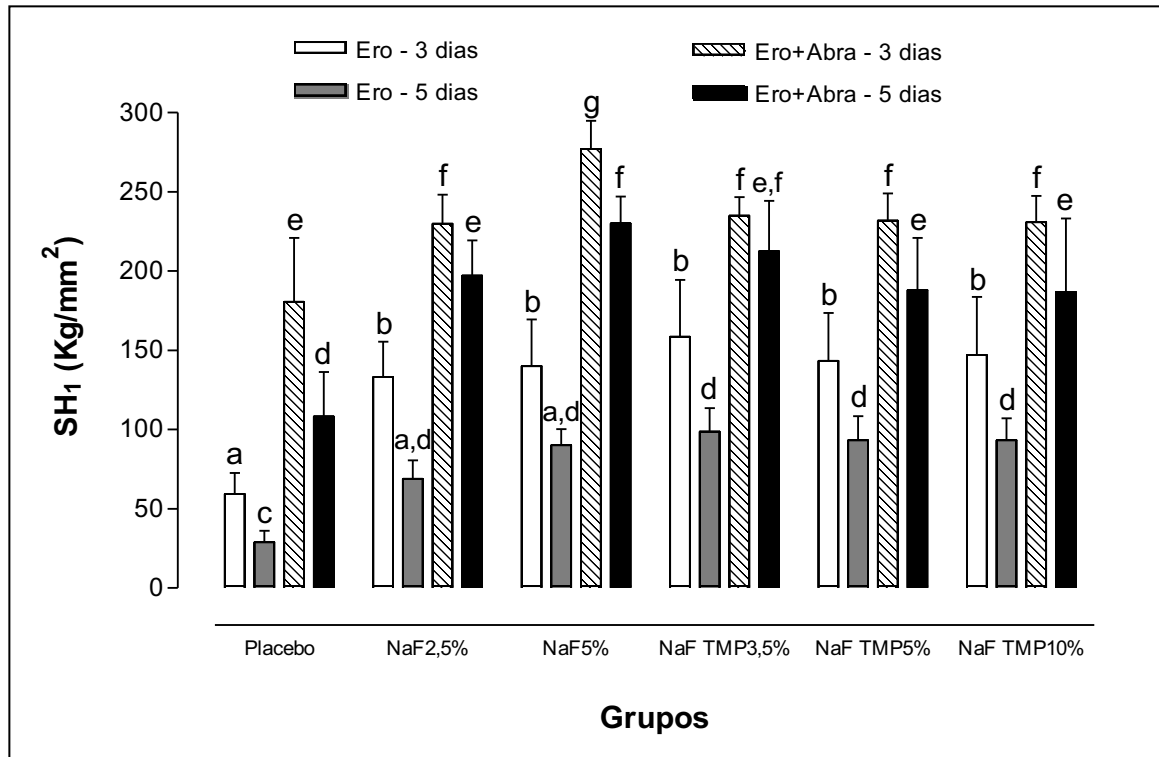


Figura 1

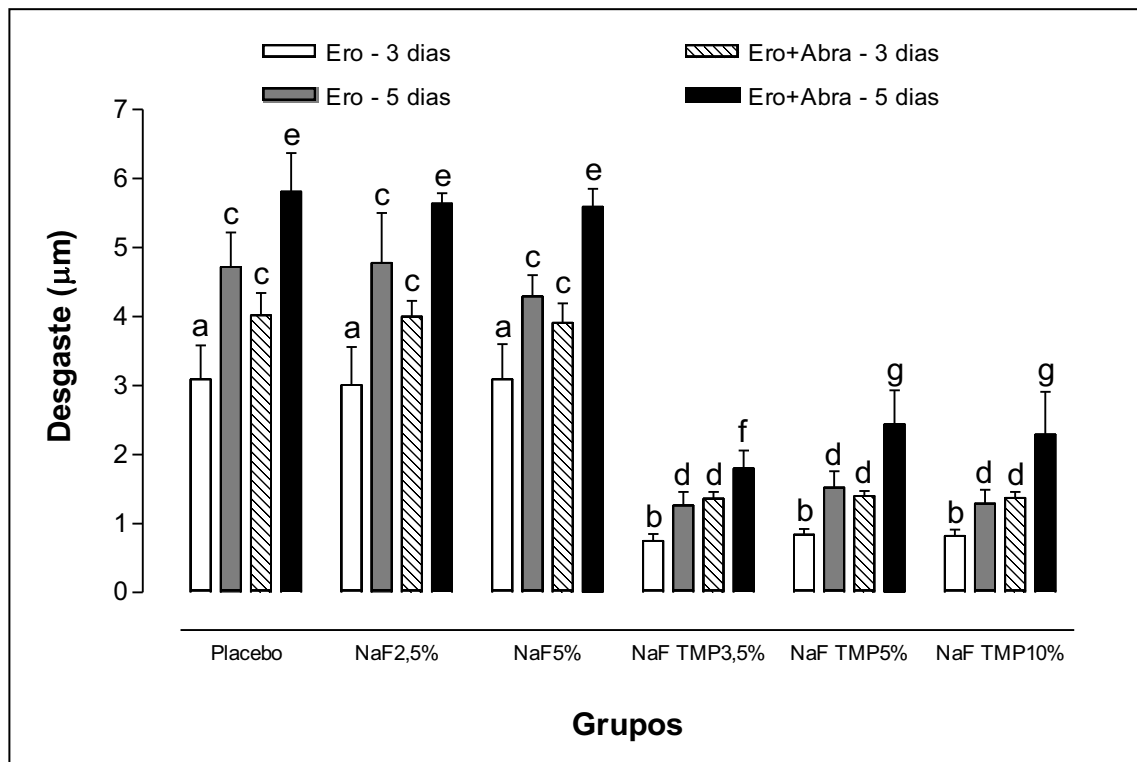


Figura 2

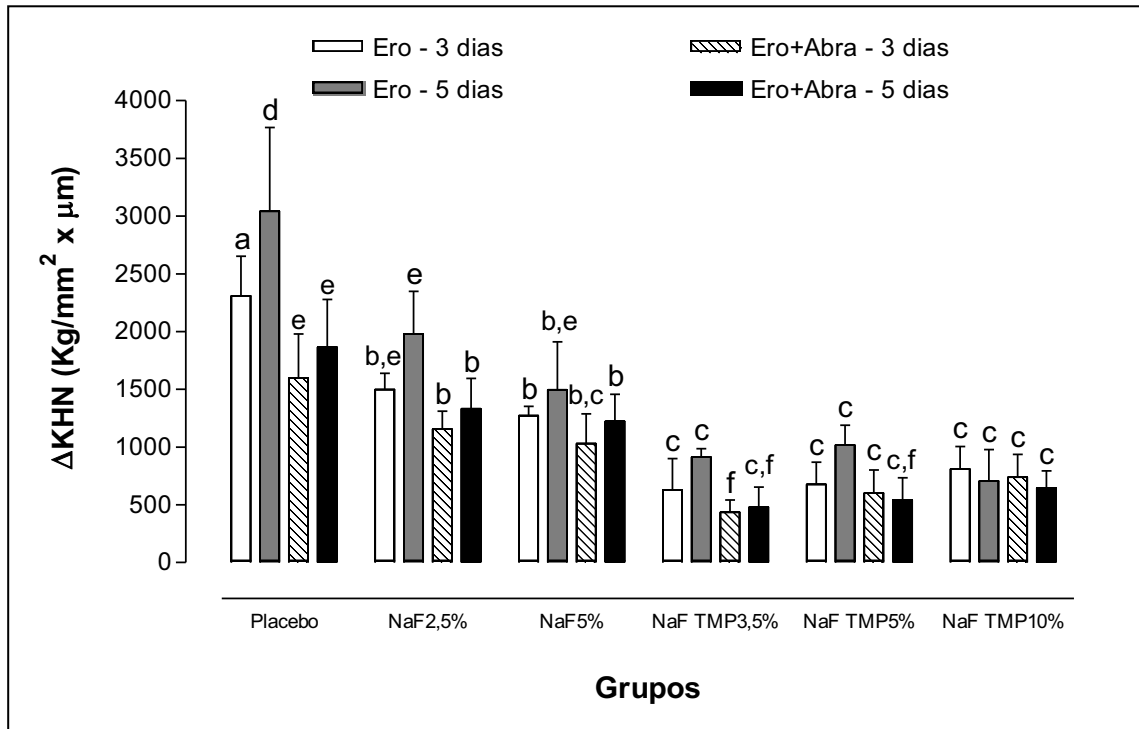


Figura 3

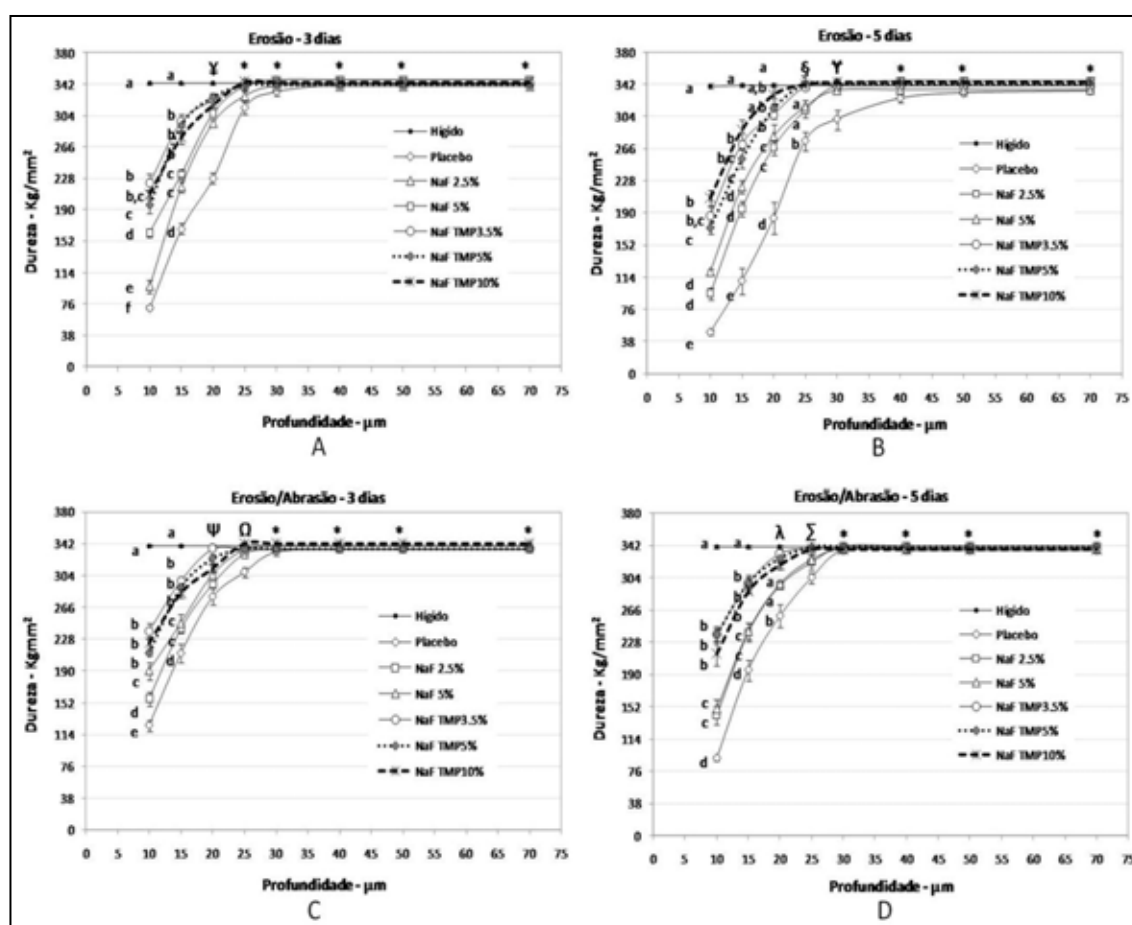


Figura 4.

ANEXO

Michele Mauricio Manarelli

ANEXO A

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Caries Research

Aims and Scope

'Caries Research' is an international journal, the aim of which is to promote research in dental caries and related fields through publication of original research and critical evaluation of research findings. The journal will publish papers on the aetiology, pathogenesis, prevention and clinical control or management of dental caries. Papers on health outcomes related to dental caries are also of interest, as are papers on other disorders of dental hard tissues, such as dental erosion. Aspects of caries beyond the stage where the pulp ceases to be vital are outside the scope of the journal. The journal reviews papers dealing with natural products and other bacterial inhibitors against specific criteria, details of which are available from the Editor.



Submission

Manuscripts written in English should be submitted at

Online Manuscript Submission

Should you experience problems with your submission, please contact:

Dr. R.P. Shellis
r.p.shellis@bris.ac.uk
 Tel. +44 (0)117 928 4328
 Fax +44 (0)117 928 4778

Copies of any 'in press' papers cited in the manuscript must accompany the submission. Manuscripts reporting on clinical trials must be accompanied by the CONSORT checklist (see below).



Conditions

All manuscripts are subject to editorial review. Manuscripts are received with the explicit understanding that the data they contain have not previously been published (in any language) and that they are not under simultaneous consideration by any other publication.

Submission of an article for publication implies the transfer of the copyright from the author to the publisher upon acceptance. Accepted papers become the property of 'Caries Research' and may not be reproduced by any means, in whole or in part, without the written consent of the publisher.

It is the author's responsibility to obtain permission to reproduce illustrations, tables, etc., from other publications.



Types of Papers

Original papers or Short Communications are reports of original work (including systematic reviews and meta-analyses). Both have the structure outlined below but for Short Communications the abstract should be less than 100 words and the manuscript should not exceed 3 printed pages, equivalent to about 9 manuscript pages (including tables, illustrations and references).

Reviews can have a freer format but should nevertheless commence with a Title page, an Abstract and an Introduction defining the scope.

Current topics are concise articles that present critical discussion of a topic of current interest, or a fresh look at a problem, and should aim to stimulate discussion.

Letters to the Editor, commenting on recent papers in the journal, are published occasionally, together with a response from the authors of the paper concerned.



Preparation of Manuscripts

Text should be one-and-a-half-spaced, with wide margins. All pages should be numbered, starting from the title page. A conventional font, such as Times New Roman or Arial, should be used, with a font size of 11 or 12. Avoid using italics except for Linnaean names of organisms and names of genes.

Manuscripts should be prepared as a text file plus separate files for illustrations. The text file should contain the following sequence of sections: Title page; Declaration of interests; Abstract; Introduction; Materials and Methods; Results; Discussion; Acknowledgements; References; Legends; Tables. Each section should start on a new page, except for the body of the paper (Introduction to Acknowledgements), which should be continuous.

Title page: The first page of each manuscript should show, in order:

- the title, which should be informative but concise;
- the authors' names and initials, without degrees or professional status, followed by their institutes;
- a short title, maximum length 60 characters and spaces, for use as a running head;
- a list of 3-10 key words, for indexing purposes;
- the name of the corresponding author and full contact details (postal address, telephone and fax numbers, and e-mail address).

Declaration of Interests: Potential conflicts of interest should be identified for each author or, if there are no such conflicts, this should be stated explicitly. Conflict of interest exists where an author has a personal or financial relationship that might introduce bias or affect their judgement. Examples of situations where conflicts of interest might arise are restrictive conditions in the funding of the research, or payment to an investigator from organisations with an interest in the study (including employment, consultancies, honoraria, ownership of shares). The fact that a study is conducted on behalf of a commercial body using funds supplied to the investigators' institution by the sponsor does not in itself involve a conflict of interest. Investigators should disclose potential conflicts to study participants and should state whether they have done so.

The possible existence of a conflict of interest does not preclude consideration of a manuscript for publication, but the Editor might consider it appropriate to publish the disclosed information along with the paper.

Abstract: The abstract should summarise the contents of the paper in a single paragraph of no more than 250 words (to ensure that the abstract is published in full by on-line services such as PubMed). No attempt should be made to give numerical results in detail. References are not allowed in the abstract.

Introduction: This section should provide a concise summary of the background to the relevant field of research, introduce the specific problem addressed by the study and state the hypotheses to be tested.

Materials and Methods (or Subjects and Methods): All relevant attributes of the material (e.g. tissue, patients or population sample) forming the subject of the research should be provided. Experimental, analytical and statistical methods should be described concisely but in enough detail that others can repeat the work. The name and brief address of the manufacturer or supplier of major equipment should be given.

Statistical methods should be described with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, findings should be quantified and appropriate measures of error or uncertainty (such as confidence intervals) given. Sole reliance on statistical hypothesis testing, such as the use of P values, should be avoided. Details about eligibility criteria for subjects, randomization and the number of observations should be included. The computer software and the statistical methods used should be specified. See Altman et al.: Statistical guidelines for contributors to medical journals [Br Med J 1983;286:1489-93] for further information.

Manuscripts reporting studies on human subjects should include evidence that the research was ethically conducted in accordance with the Declaration of Helsinki ([World Medical Association](#)). In particular, there must be a statement in Materials and Methods that the consent of an appropriate ethical committee was obtained prior to the start of the study, and that subjects were volunteers who had given informed, written consent.

Clinical trials should be reported according to the standardised protocol of the [CONSORT Statement](#). The CONSORT checklist must be submitted together with papers reporting clinical trials.

In studies on laboratory animals, the experimental procedures should conform to the principles laid down in the [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes](#) and/or the [National Research Council Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#).

Unless the purpose of a paper is to compare specific systems or products, commercial names of clinical and scientific equipment or techniques should only be cited, as appropriate, in the 'Materials and Methods' or 'Acknowledgements' sections. Elsewhere in the manuscript generic terms should be used.

Results: Results should be presented without interpretation. The same data should not be presented in both tables and figures. The text should not repeat numerical data provided in tables or figures but should indicate the most important results and describe relevant trends and patterns.

Discussion: This section has the functions of describing any limitations of material or methods, of interpreting the data and of drawing inferences about the contribution of the study to the wider field of research. There should be no repetition of preceding sections, e.g. reiteration of results or the aim of the research. The discussion should end with a few sentences summarising the conclusions of the study. However, there should not be a separate 'Conclusions' section.

Acknowledgements: Acknowledge the contribution of colleagues (for technical assistance, statistical advice, critical comment etc.) and also acknowledge the source of funding for the project. The position(s) of author(s) employed by commercial firms should be included.

Legends: The table headings should be listed first, followed by the legends for the illustrations.

Tables: Tables should be numbered in Arabic numerals. Each table should be placed on a separate page. Tables should not be constructed using tabs but by utilising the table facilities of the word-processing software.

Illustrations:

- Illustrations should be numbered in Arabic numerals in the sequence of citation. Figure numbers must be clearly indicated on the figures themselves, outside the image area.
- Black and white half-tone illustrations must have a final resolution of 300 dpi after scaling, line drawings one of 800-1200 dpi.
- Figures with a screen background should not be submitted.
- When possible, group several illustrations in one block for reproduction (max. size 180 x 223 mm).

Color Illustrations

Online edition: Color illustrations are reproduced free of charge. In the print version, the illustrations are reproduced in black and white. Please avoid referring to the colors in the text and figure legends.

Print edition: Up to 6 color illustrations per page can be integrated within the text at CHF 760.00 per page.



References

Reference to other publications should give due acknowledgement to previous work; provide the reader with accurate and up-to-date guidance on the field of research under discussion; and provide evidence to support lines of argument. Authors should select references carefully to fulfil these aims without attempting to be comprehensive.

Cited work should already be published or officially accepted for publication. Material submitted for publication but not yet accepted should be cited as 'unpublished results', while unpublished observations communicated to the authors by another should be cited as 'personal communication', with credit in both cases being given to the source of the information. Neither unpublished nor personally communicated material should be included in the list of references. Abstracts more than 2 years old and theses should not be cited without a good reason, which should be explained in the covering letter accompanying the paper.

References should be cited by naming the author(s) and year. Where references are cited in parenthesis, both names and date are enclosed in square brackets. Where the author is the subject or object of the sentence, only the year is enclosed in brackets.

One author: [Frostell, 1984] or Frostell [1984].

Two authors: [Dawes and ten Cate, 1990] or Dawes and ten Cate [1990].

More than two authors: [Trahan et al., 1985] or Trahan et al. [1985].

Several references cited in parenthesis should be in date order and separated by semi-colons: [Frostell, 1984; Trahan et al., 1985; Dawes and ten Cate, 1990].

Material published on the World Wide Web should be cited like a reference to a print publication, and the URL included in the reference list (not in the text), together with the year when it was accessed.

The reference list should include all the publications cited in the text, and only those publications. References, formatted as in the examples below, should be arranged in strict alphabetical order. All authors should be listed. For papers by the same authors, references should be listed according to year. Papers published by the same authors in the same year should be distinguished by the letters a, b, c, ... immediately following the year, in both the text citation and the reference list. For abbreviation of journal names, use the Index Medicus system. For journals, provide only the year, volume number and inclusive page numbers.

Examples

(a) *Papers published in periodicals*: Lussi A, Longbottom C, Gygax M, Braig F: Influence of professional cleaning and drying of occlusal surfaces on laser fluorescence in vivo. *Caries Res* 2005;39:284-286.

(b) *Papers published only with DOI numbers*: Theoharides TC, Boucher W, Spear K: Serum interleukin-6 reflects disease severity and osteoporosis in mastocytosis patients. *Int Arch Allergy Immunol* DOI: 10.1159/000063858.

(c) *Monographs*: Matthews DE, Farewell VT: *Using and Understanding Medical Statistics*. Basel, Karger, 1985.

(d) *Edited books*: DuBois RN: Cyclooxygenase-2 and colorectal cancer; in Dannenberg AJ, DuBois RN (eds): *COX-2. Prog Exp Tum Res*. Basel, Karger, 2003, vol 37, pp 124-137.

(e) *Patents*: Diggins AA, Ross JW: Determining ionic species electrochemically. UK Patent Application GB 2 064 131 A, 1980.

(f) *World Wide Web*: Chaplin M: Water structure and behavior. www.lsbu.ac.uk/water, 2004.

Digital Object Identifier (DOI)

S. Karger Publishers supports DOIs as unique identifiers for articles. A DOI number will be printed on the title page of each article. DOIs can be useful in the future for identifying and citing articles published online without volume or issue information. More information can be found at <http://www.doi.org/>



Author's Choice™

With this option the author can choose to make his article freely available online against a one-time fee of CHF 2,750.00. This fee is independent of any standard charges for supplementary pages, color images etc. which may apply. More information can be found at <http://content.karger.com/services/choice.asp>.

Does your funding agency/institute require you to deposit your article in an institutional archive (e.g. PubMedCentral)? You will be pleased to hear that Karger journals are fully geared up for this requirement. All you have to do is opt for open access publication of your article through Karger's Author's Choice™. Karger will also take care of the immediate deposit in the PubMedCentral archive and what's more, not of the manuscript, but of the final, published article. The article will also be available with open access right away, and not just after 12 months. The cost of Author's Choice™ is a permissible cost in your grant, so please take care to budget for it.



Page Charges

There are no page charges for papers of seven or fewer printed pages (including tables, illustrations and references). A charge of CHF 650.00 will be levied for each page in excess of the allotted seven printed pages. The allotted size of a paper is equal to approximately 21 typescript pages (including tables, illustrations and references).

Proofs

Unless indicated otherwise, proofs are sent to the first-named author and should be returned with the least possible delay. Alterations made in proofs, other than the correction of printer's errors, are charged to the author. No page proofs are supplied to the author.



Reprints

Order forms and a price list are sent with the proofs. Orders submitted after this issue is printed are subject to considerably higher prices.

 Copyright © 2010 S. Karger AG, Basel

ANEXO B

CONFECÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE BOVINO (4X4mm)



1. Coroa do dente bovino incisivo central inferior, separada da raiz por meio de disco diamantado de duas faces (KG Sorensen D 91), montado em motor de bancada (Nevoni), mantido sob refrigeração (água destilada/deionizada).



2. Secção da coroa utilizando disco diamantado (série 15 HC Diamond - n. 11-4244 Buehler) separando a superfície vestibular da lingual.



3. Face vestibular fixada na placa de acrílico.



4. Secção da face vestibular no sentido longitudinal, na porção mais plana, utilizando-se 2 discos diamantados (série 15 HC Diamond –n. 11-4244 Buehler), montados em cortadeira sob refrigeração com água destilada/deionizada e separados por um disco espaçador de alumínio com 4 mm de espessura. Em seguida, foi realizado o corte no sentido transversal.



5. Fragmento vestibular do dente bovino, fixado sobre placa de resina. Ao lado, bloco de esmalte dentário.

ANEXO C

PLANIFICAÇÃO DA DENTINA E POLIMENTO DO ESMALTE



1. Bloco de esmalte fixado em disco de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 11 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA), com a superfície dentinária voltada para cima.

2. Ajuste da dentina para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina, utilizando Politriz Beta – Grinder – Polisher e Vector Power Head (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) e lixas de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler), durante 30 segundos sob baixa rotação e refrigeração.



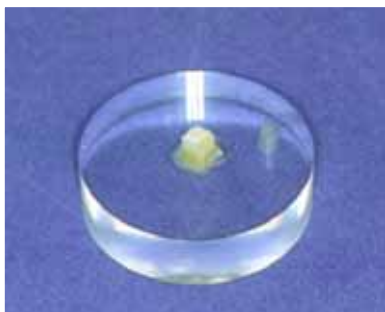
3. Blocos fixados com a superfície do esmalte voltada para cima para serem polidos.

Seqüência do polimento de esmalte:

- ✓ Pedra-pomes, água deionizada e taça de borracha montada em contra-ângulo em baixa-rotação.
- ✓ Lixas de granulação 400 (30 segundos), 600 (20 segundos) e 1200 (30 segundos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/ deionizada por 2 minutos, entre cada lixa;
- ✓ Acabamento final com disco de papel feltro TEXMET 1000 (Buehler Polishing Cloth) durante 1 minuto com suspensão de diamante 1 micron base-água (Buehler);
- ✓ Lavagem durante 30 segundos com jato de água deionizada;
- ✓ Limpeza em lavadora ultrassônica Modelo 2110 (Branson, Danbury CT, USA) com água destilada/ deionizada (2 minutos).

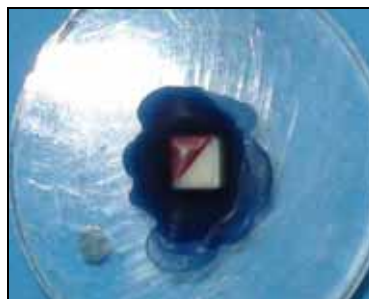
ANEXO D

PROTEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE E APLICAÇÃO DO VERNIZ

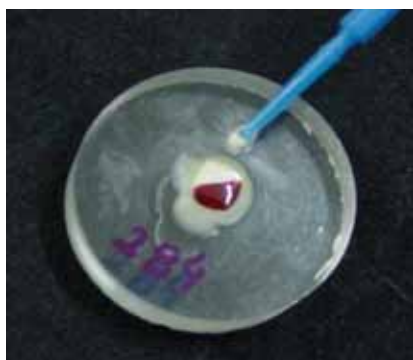


1. Seleção prévia dos blocos realizada através de microdureza e observação a olho nu da superfície de cada bloco.

2. Esmalte cosmético foi utilizado para proteger uma área dos fragmentos necessária para realização dos testes de perfilometria. Uma fita adesiva (Scotch, 3M do Brasil Ltda, Sumaré, SP) foi posicionada na diagonal da superfície do espécime, promovendo a proteção de uma porção e expondo a área a ser pintada.



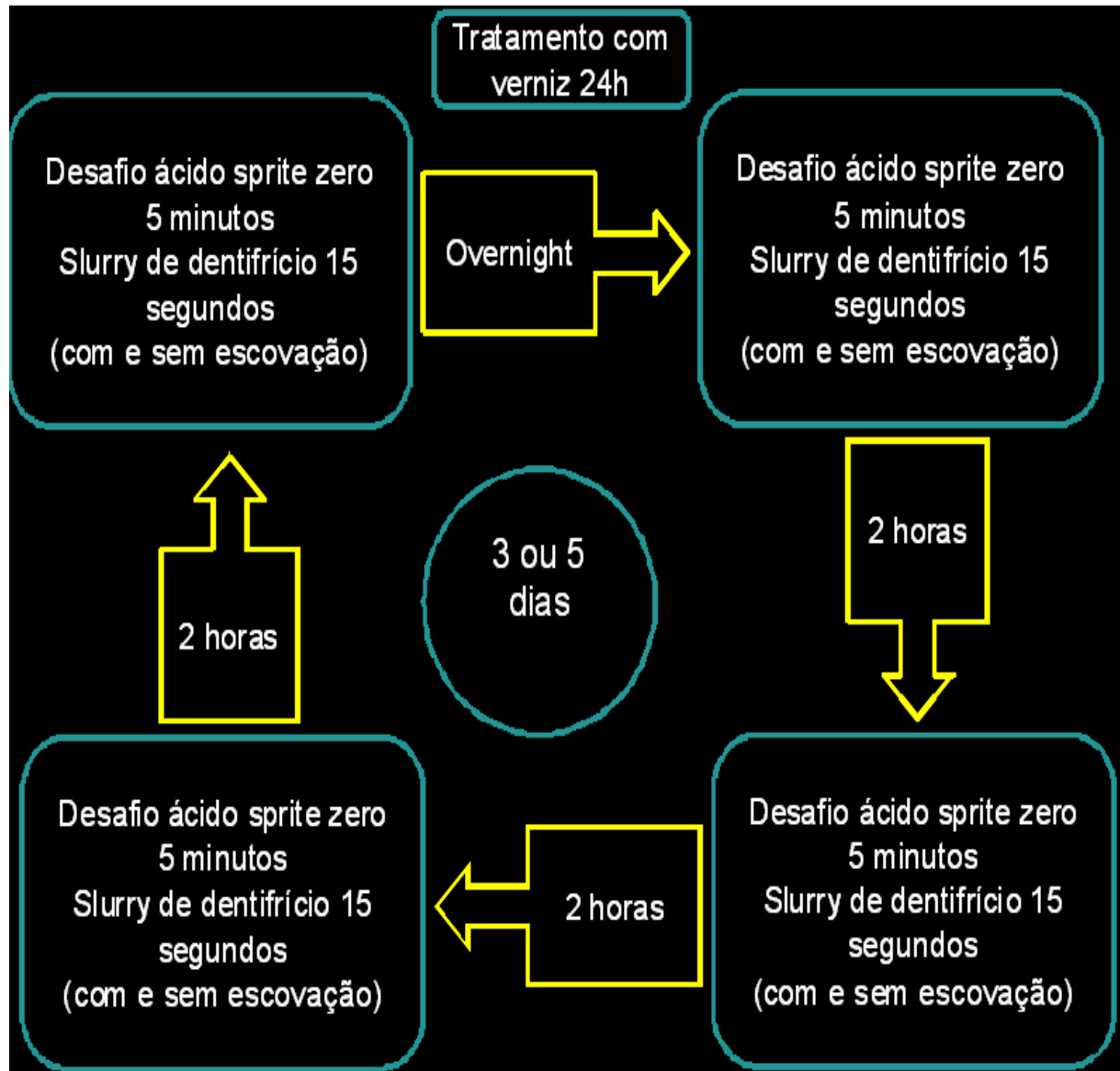
3. Aplicação de uma fina camada de verniz com o uso de um microbrush.



ANEXO E
DOSAGEM DE F NO VERNIZ

	Média (µg F/g)	dp
Placebo	273,6	39,7
5% NaF	29603,2	1253,5
2,5% NaF	9388,7	456,1
2,5% NaF + 3,5% TMP	8684,9	450,8
2,5% NaF + 5% TMP	17101,0	1260,8
2,5% NaF + 10% TMP	9175,1	550,0

ANEXO F
ESQUEMA DESAFIO ÁCIDO

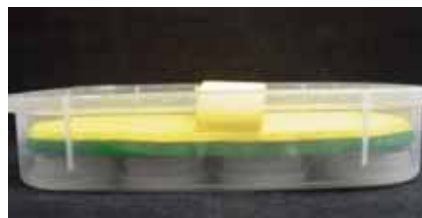


ANEXO G

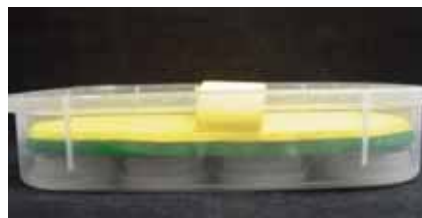
SEQUÊNCIA EROSÃO



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 12 blocos, colocado em recipiente próprio com solução remineralizadora em intervalos de 2 horas.



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 12 blocos, colocado em recipiente com sprite zero[®] durante 5 minutos.



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 12 blocos, colocado em recipiente com slurry de dentífrico placebo (1:3) durante 15 segundos.

ANEXO H

SEQUÊNCIA ABRASÃO



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 12 blocos, colocado em recipiente próprio com solução remineralizadora em intervalos de 2 horas.



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 12 blocos, colocado em recipiente com sprite zero[®] durante 5 minutos.



Escovação dos blocos submersos em dentífrico por 15 segundos, com máquina simulação de escovação.

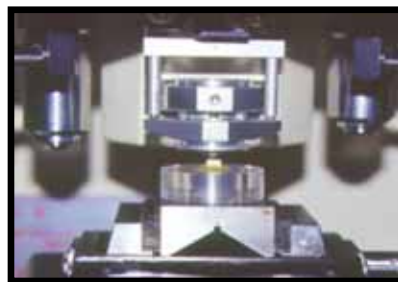
ANEXO I

AVALIAÇÃO DA MICRODURZA



1. Microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2000 (Shimadzu Corporation-Kyoto-Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem CAMS-WIN (NewAge Industries, USA).

2. Bloco de esmalte sendo submetido à leitura no microdurômetro, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos, para análise da microdureza de superfície.



Inicial



Final



4. Fotomicrografia das impressões para análise de microdureza de superfície inicial e final do esmalte (Aumento: 50x).

ANEXO J

DUREZA DE SUPERFÍCIE

Valores obtidos a partir da análise da dureza de superfície (Kg/mm²)

Grupos 3 dias erosão						
	Dureza inicial (SHi)		Dureza final (SHf)		% SMHC	dp
	Média	dp	Média	dp		
Placebo	358,5	10,1	59,3	13,4	-83,4	4,0
5% NaF	355,3	13,6	140,1	29,3	-60,4	8,9
2,5% NaF	353,8	13,2	133,3	22,2	-62,3	6,2
2,5% NaF + 3,5% TMP	360,5	16,3	158,6	35,8	-56,0	10,1
2,5% NaF + 5% TMP	350,9	11,8	143,3	30,2	-59,3	7,9
2,5% NaF + 10% TMP	355,7	11,7	147,0	36,7	-58,7	10,0

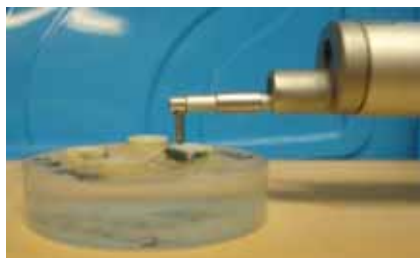
Grupos 5 dias erosão						
	Dureza inicial (SHi)		Dureza final (SHf)		% SMHC	dp
	Média	dp	Média	dp		
Placebo	355,1	15,0	29,0	7,1	-91,8	2,2
5% NaF	344,4	13,2	90,1	10,1	-73,7	3,1
2,5% NaF	344,9	12,9	68,9	11,8	-80,0	3,5
2,5% NaF + 3,5% TMP	351,4	15,5	98,7	14,9	-71,8	4,7
2,5% NaF + 5% TMP	355,8	11,2	93,3	15,2	-73,8	4,3
2,5% NaF + 10% TMP	350,5	14,3	93,3	13,9	-73,36	4,1

Grupos 3 dias erosão e abrasão						
	Dureza inicial (SHi)		Dureza final (SHf)		% SMHC	dp
	Média	dp	Média	dp		
Placebo	355,1	15,2	180,6	40,4	-49,2	11,0
5% NaF	354,0	12,5	277,1	17,7	-21,6	6,0
2,5% NaF	358,7	6,0	229,9	18,3	-35,8	5,6
2,5% NaF + 3,5% TMP	350,9	16,2	234,9	11,8	-33,0	3,2
2,5% NaF + 5% TMP	355,3	12,6	231,9	17,1	-34,6	6,5
2,5% NaF + 10% TMP	363,4	9,1	230,8	16,7	-36,4	5,0

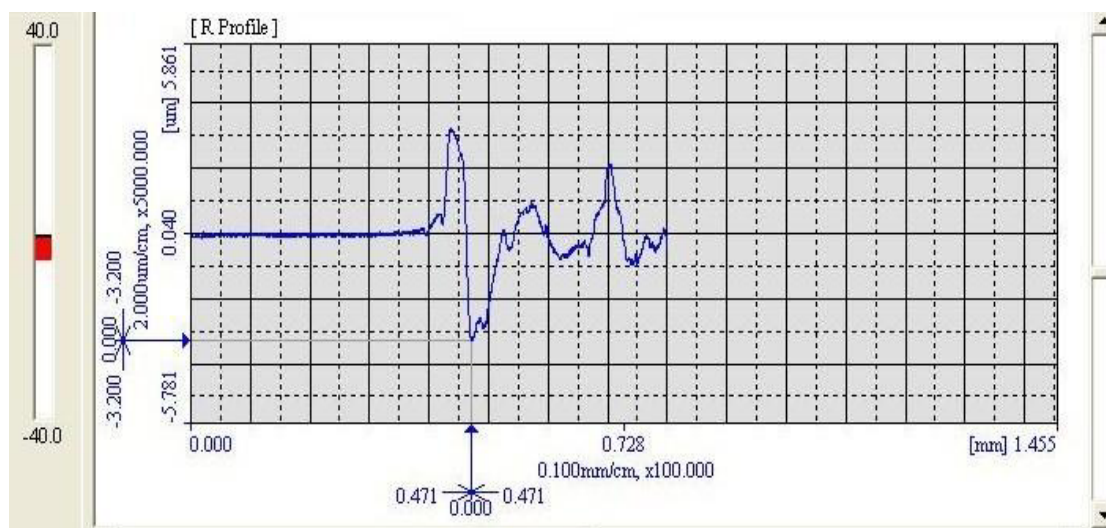
Grupos 5 dias erosão e abrasão						
	Dureza inicial (SHi)		Dureza final (SHf)		% SMHC	dp
	Média	dp	Média	dp		
Placebo	356,3	12,6	108,2	28,1	-69,5	8,3
5% NaF	359,7	9,0	230,1	17,0	-36,0	4,7
2,5% NaF	353,3	10,8	197,2	22,1	-44,2	6,1
2,5% NaF + 3,5% TMP	349,1	17,4	212,6	31,7	-39,0	9,2
2,5% NaF + 5% TMP	362,6	10,0	188,0	33,0	-48,1	9,0
2,5% NaF + 10% TMP	351,7	12,1	186,8	46,4	-47,0	12,9

ANEXO K

ANÁLISE DO DESGASTE



Rugosímetro – Mitutoyo (Mitutoyo American Corporation)



Surfpack-SJ versão 1.6

ANEXO L
PERFILOMETRIA – DESGASTE SUPERFICIAL

Grupos 3 dias erosão		
Desgaste		
	Média	dp
Placebo	3,094	0,492
5% NaF	3,091	0,513
2,5% NaF	3,013	0,549
2,5% NaF + 3,5% TMP	0,749	0,101
2,5% NaF + 5% TMP	0,839	0,077
2,5% NaF + 10% TMP	0,824	0,093

Grupos 5 dias erosão		
Desgaste		
	Média	dp
Placebo	4,761	0,521
5% NaF	4,294	0,513
2,5% NaF	4,775	0,723
2,5% NaF + 3,5% TMP	1,262	0,201
2,5% NaF + 5% TMP	1,518	0,241
2,5% NaF + 10% TMP	1,292	0,200

Grupos 3 dias erosão e abrasão		
Desgaste		
	Média	dp
Placebo	4,024	0,324
5% NaF	3,913	0,278
2,5% NaF	3,998	0,235
2,5% NaF + 3,5% TMP	1,362	0,102
2,5% NaF + 5% TMP	1,398	0,074
2,5% NaF + 10% TMP	1,365	0,090

Grupos 5 dias erosão e abrasão		
Desgaste		
	Média	dp
Placebo	5,808	0,556
5% NaF	5,594	0,258
2,5% NaF	5,641	0,147
2,5% NaF + 3,5% TMP	1,796	0,260
2,5% NaF + 5% TMP	2,444	0,494
2,5% NaF + 10% TMP	2,289	0,619

ANEXO M

ANÁLISE DA DUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL



1. Embutir – utilizada para inclusão dos blocos de esmalte em 5 gramas de resina acrílica auto polimerizante (JET, Campo Limpo Paulista, Brasil). Os blocos foram fixados em posição com cola adesiva (Super Bonder – Loctite).



2. Corpo de prova – plano longitudinal voltado para a superfície da resina acrílica.



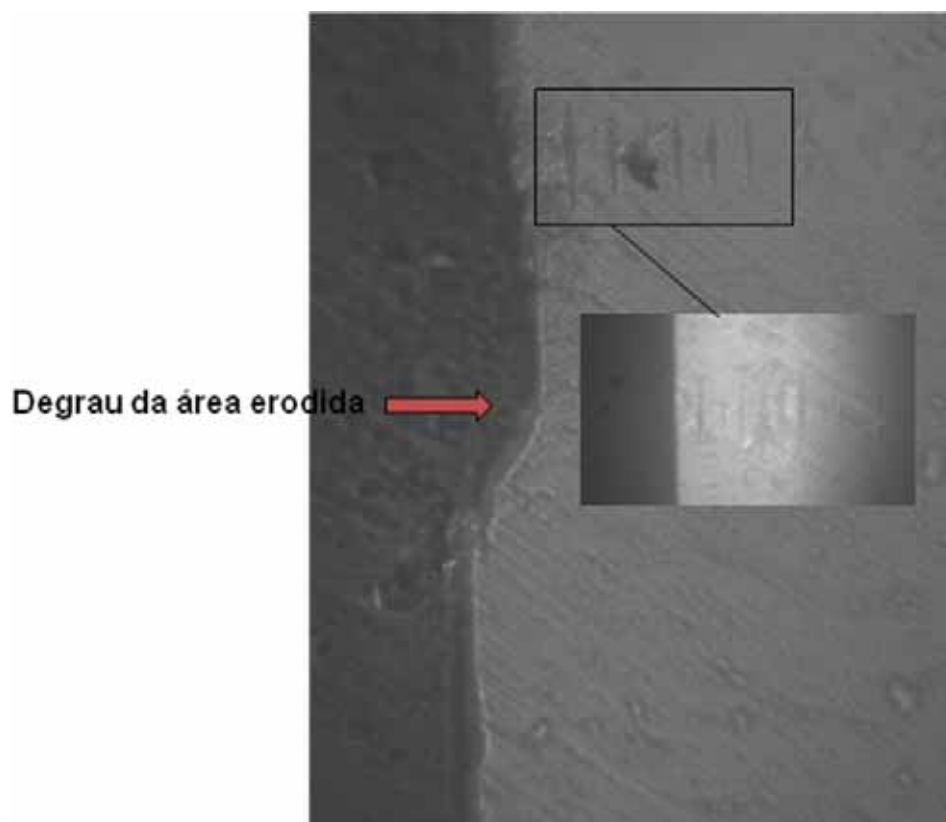
3. Microdurômetro Micromet 5114 Hardness Tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem Buehler OminMet (Buehler, Lake Bluff, USA).

Seqüência do polimento de esmalte:

- ✓ Lixas de granulação 320 (1 minuto), 600 e 1200 (2 minutos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/ deionizada por 2 minutos, entre cada lixa;
- ✓ Acabamento final com disco de papel feltro Microcloth Supreme PSA (Buehler) durante 2 minutos com suspensão de diamante 1/4 micron base-água (Buehler);
- ✓ Lavagem durante 30 segundos com jato de água deionizada;
- ✓ Limpeza em lavadora ultrassônica utilizando água destilada/deionizada (2 minutos).



Esquema representativo da seqüência de 8 impressões nas distâncias de 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 e 70 μm da superfície externa do esmalte, realizada na área central dos blocos, e outras duas a 100 μm acima e abaixo.



Fotomicrografia das impressões. (Aumento: 1000x)

ANEXO N

DUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL (ΔZ)

Grupos 3 dias erosão						
	Placebo	5% NaF	2,5% NaF	2,5% NaF+ 3,5% TMP	2,5% NaF+ 5% TMP	2,5% NaF + 10% TMP
1	2164,8	1199,8	1255,0	1974,5	2121,3	1431,0
2	2570,3	1064,3	1512,5	1047,3	1447,8	1587,3
3	1985,3	1269,5	1401,8	1861,0	1688,0	1865,5
4	2004,3	1113,3	1269,0	1356,3	1236,8	1842,0
5	1989,3	1241,3	1400,8	1411,3	1732,0	2075,5
6	2847,8	1189,3	1380,3	956,3	1328,8	1789,8
7	2250,0	1328,3	1700,5	1652,3	1637,3	1573,8
8	1972,3	1203,5	1604,5	1298,5	1460,8	1266,0
Média	2223,0	1201,1	1440,5	1444,7	1581,6	1678,8
DP	324,5	83,7	155,9	363,3	278,7	262,5

Grupos 5 dias erosão						
	Placebo	5% NaF	2,5% NaF	2,5% NaF + 3,5% TMP	2,5% NaF + 5% TMP	2,5% NaF + 10% TMP
1	3946,3	1400,3	1988,8	1793,8	1941,8	1912,0
2	3880,0	1137,0	1968,5	1767,0	1740,0	1288,3
3	2246,3	1265,5	2455,8	1801,0	1870,5	1790,0
4	3667,3	1234,5	1831,3	1960,3	2234,5	1969,5
5	2902,3	2350,8	2245,8	1899,3	2044,5	1105,8
6	2311,8	1111,3	1313,5	1768,8	2243,5	1409,3
7	2493,5	1442,3	1544,3	1863,3	1986,8	1511,8
8	2322,3	1532,0	2721,8	1967,0	2046,8	1470,0
Média	2971,2	1434,2	2008,7	1852,5	2013,5	1557,1
DP	744,1	398,5	462,4	82,3	171,1	306,5

Grupos 3 dias erosão e abrasão						
	Placebo	5% NaF	2,5% NaF	2,5% NaF+ 3,5% TMP	2,5% NaF + 5% TMP	2,5% NaF+ 10% TMP
1	2256,0	718,0	1092,8	1206,3	1651,8	1315,5
2	1533,5	694,5	1052,5	1194,5	1036,0	1500,5
3	1907,0	951,3	1072,8	913,3	1125,5	1548,5
4	1326,8	1016,8	1393,0	887,0	1184,5	1744,5
5	1544,0	849,3	1189,5	857,5	1240,8	1515,5
6	1354,3	754,5	973,8	1124,8	1265,5	1922,0
7	1223,8	1178,3	1085,3	823,8	1496,0	873,8
8	1246,5	1439,5	880,5	1252,3	1628,3	1550,8
Média	1549,0	950,3	1092,5	1032,4	1328,5	1496,4
DP	361,1	257,4	151,6	178,4	233,5	309,2

Grupos 5 dias erosão e abrasão						
	Placebo	5% NaF	2,5% NaF	2,5% NaF + 3,5% TMP	2,5% NaF+ 5% TMP	2,5% NaF + 10% TMP
1	1551,0	1227,0	1493,3	1051,5	853,3	1039,5
2	1652,3	679,8	1523,3	993,0	1267,3	1745,8
3	1715,5	1187,5	1468,0	1187,0	1238,0	922,0
4	1615,5	1320,3	1224,0	1234,0	1721,3	1396,8
5	1811,8	1074,3	1342,5	932,3	962,5	1537,0
6	1900,5	991,5	1244,0	1600,8	1211,0	1758,0
7	1345,5	1452,8	1007,0	1080,0	1055,0	1566,8
8	2716,5	1164,5	789,3	1381,3	1661,0	1334,0
Média	1788,6	1137,2	1261,4	1182,5	1246,2	1412,5
DP	410,7	232,6	256,6	221,5	309,6	306,1