

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARAÇATUBA

**Efeito da microabrasão e do clareamento dental na rugosidade superficial e
microdureza do esmalte dental. Estudo longitudinal 'in situ'**

Laura Molinar Franco

ARAÇATUBA

2014

Laura Molinar Franco

EFEITO DA MICROABRASÃO E DO CLAREAMENTO DENTAL NA RUGOSIDADE SUPERFICIAL E
MICRODUREZA DO ESMALTE DENTAL. ESTUDO LONGITUDINAL 'IN SITU'

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da
Universidade Estadual Paulista "Julio de
Mesquita Filho" - UNESP, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
em Odontologia, Área de concentração:
Dentística

Orientador: Prof. Titular Renato Herman Sundfeld

Araçatuba - São Paulo

2014

Catálogo na Publicação (CIP)
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

F825e	Franco, Laura Molinar. Efeito da microabrasão e do clareamento dental na rugosidade superficial e microdureza do esmalte dental : estudo longitudinal 'in situ' / Laura Molinar Franco. - Araçatuba, 2014 90 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba Orientador: Prof. Renato Herman Sundfeld 1. Microabrasão do esmalte 2. Clareamento dental 3. Esmalte dentário 4. Teste de dureza I. T. Black D2 CDD 617.6
-------	--

Dedicatória

Aos meus pais,

Fonte de sabedoria, carinho, amor, dedicação e total entrega à família que construíram com grande êxito. Não há como tentar descrever tudo o que são pra mim e para meus irmãos; falar que são meus pais já fica implícito todo amor, ternura, respeito, consideração e carinho infinitos que tenho por vocês. Me ensinaram o quanto a vida é boa e sempre serão meus maiores e melhores exemplos e modelos. Dedico especialmente a vocês, mais essa conquista, com a sensação de dever cumprido!

A minha irmã, Isabela:

A menina dos meus olhos, a minha força maior, minha melhor amiga, meu anjo da guarda, minha certeza e meu porto seguro. Irmã, tenho certeza que ter você comigo foi o melhor presente que a vida me proporcionou... não consigo imaginá-la sem você! Sua determinação, disposição, coragem e força me fizeram uma pessoa melhor, e com certeza me estimularam a concluir mais esse objetivo, o qual dedico à você!

Aos meus irmãos, Neto e Pedro:

Meus pequenos grandes meninos, meus amigos, companheiros e protetores. Fonte inesgotável de carinho e recordações. Com vocês aprendi a graça da vida, a viver com mais humor e leveza, tendo a honra de poder saber o que é amor de irmão. Dedico à vocês mais essa conquista!

Minha vida, minha preciosidade, meus orgulhos...

amo vocês infinitamente!

Dedico à vocês.

Agradecimientos

Agradecimentos especiais

Pai e Mãe,

mais que apenas dedicar, tenho que agradecer, todos os dias, por ter vocês como meus pais. Agradecer por todo amor, carinho, confiança, apoio, conforto, por cada aprendizado, pelas noites de sono perdidas e, especialmente, pela infinita dedicação despendida para me proporcionar sempre as melhores coisas da vida ao lado de vocês! Serei sempre, e cada dia mais, grata à vocês! Muito obrigada, papi e mami!

Neto, Isabela e Pedro,

agradeço sempre por tê-los ao meu lado, como os melhores companheiros e amigos de caminhada que alguém sonharia em ter! Muito obrigada pelo amor e presença constantes em minha vida, me fazendo cada dia melhor e mais feliz! A vida é mais bonita por ter vocês comigo! Jó, obrigada pela oportunidade de ter me tornado sua amiga! Irmã, obrigada por me mostrar com tanto carinho um mundo maravilhoso! Pipa, obrigada por desde sempre ter estado ao meu lado! Vocês são minha melhor verdade!

A minha família,

paterna e materna, sempre presentes, fazendo parte da minha história, colaborando, compartilhando e celebrando todas as minhas conquistas! O amor de vocês também foi essencial para que eu cumprisse essa etapa!

Ao Professor Renato Herman Sundfeld,

meu orientador e pai científico, que acreditou em minha competência, responsabilidade e dedicação, sendo peça fundamental para que eu iniciasse a pós-graduação e me encantasse com a área acadêmica. Com sua dedicação e orientação, fui capaz de aprender e crescer profissional e pessoalmente, de maneira que nunca havia imaginado! Sou eternamente grata pelos ensinamentos, pelos conselhos de educador e pai, pelas oportunidades, confiança, paciência, e principalmente pelo amor e compromisso ao que faz, sendo um grandioso exemplo para todos os seus orientados!

Ao Lucas Silveira Machado,

meu amigo e parceiro de todos os dias, que nunca mediu esforços para me ajudar, sempre me apoiando, incentivando e ensinando! Ter você como colega de trabalho fez com que esses dois anos de mestrado fossem mais leves, divertidos e prazerosos de serem vividos, tendo a certeza que, juntos, continuaremos crescendo e alcançando objetivos rumo à carreira acadêmica que desejamos. Tenho imenso orgulho e honra de trabalhar com uma pessoa com tantas qualidades e que, a cada dia que passa, só tem a somar em minha vida! A sua amizade foi um presente que o mestrado me proporcionou! Muito obrigada, Lusquete!

A Caroline Cantieri de Mello,

minha amiga/irmã que a faculdade me presenteou há 6 anos, e que, desde então, compartilhamos uma amizade forte e verdadeira, dividindo a vida cotidiana, conquistas e momentos difíceis. Juntas, a caminhada da vida ficou mais fácil e conseguimos suportar a saudade de estar longe de casa para continuarmos em frente com os nossos objetivos. Só tenho a te agradecer pelo convívio, amizade e carinho, que tenho certeza, serão para vida toda! Você é parte de mais essa conquista! Muito obrigada, Carol!

Agradecimentos

Eternamente grata...

Aos voluntários que aceitaram participar da pesquisa. Vocês foram fundamentais para o desenvolvimento científico deste trabalho. Obrigada pela solidariedade, disponibilidade, paciência e compreensão durante todo período que precisei de vocês!

A Adhara Smith Nobrega,

minha melhor vizinha, minha amiga com a melhor risada, sempre companheira, disposta a ajudar a qualquer hora! Mais uma amizade que levarei pra vida inteira! Dha, muito obrigada por estar comigo esses anos de pós-graduação, que foram mais alegres com você ao meu lado!

As minhas grandes amigas,

Carolinne Machado Marinho, Camila de Assis Vianna, Thays Cristina de Carvalho Rodrigues e Stefania de Oliveira Abati, que me acompanharam durante a faculdade, e até hoje são presença constante em minha vida! Obrigada, meninas, pela amizade, carinho e apoio sempre!

As minhas queridas amigas,

Agda Marobo Andreotti, Ana Laura Esteves dos Santos e Mariana Vilela que sempre estão ao meu lado, prontas para ajudarem no que for preciso. Você são especiais! Guida, Aninha e Mari, muito obrigada pela amizade de vocês!

Aos meus colegas de mestrado,

André de Lima Godas e Rafael Simões Gonçalves, por terem sido presenças constantes no departamento, me acompanhando, sempre me ajudando e deixando meus dias mais alegres durante todo o curso. Muito obrigada, Andrézito e Rafa!

A Fernanda Garcia de Oliveira,

que apesar da pouca convivência, foi essencial no início do meu curso, e para que esse trabalho fosse concluído! Muito obrigada, Fer, você é especial!

Aos alunos de iniciação científica,

Ana Paula Pereira, Bruna Barbieri, Fernanda Azevedo, Fernanda Bernardi, Mariana Hildebrant, Marjorie Gallinari, Naiara Montes e Laércio Marcon, que com certeza fizeram do nosso ambiente de trabalho um lugar ótimo para estar, com um convívio que não poderia ter sido melhor! Mais que colegas, se tornaram grandes amigos! Muito obrigada, vocês são importantes para mim!

Ao Aljomar Vechiato e Rodrigo Medeiros,

grandes amigos que estão sempre prontos para me acolher com seus melhores sorrisos e dispostos a ajudarem no que for preciso! Pudim e Rods, muito obrigada pela amizade e ótima convivência! Vocês sabem o quanto são importantes para mim!

Ao Pedro Tomé e Raísa Slywitch,

meus amigos desde o colegial, que sempre carregou comigo na lembrança, e que apesar da distância, nunca deixaram de se preocupar e se importar comigo, mostrando que para algumas amizades realmente não existem barreiras! Obrigada por estarem comigo todos esses anos, tenho carinho enorme por vocês!

Meus Sinceros Agradecimentos

À **Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira**, principalmente ao Departamento de Física e Química, e ao técnico Élton Souza, pela disponibilidade e atenção em nos atender e por terem cedido o uso do microscópio eletrônico por varredura, essencial para realização desse trabalho. Muito obrigada!

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, na pessoa da Ilustríssima Diretora Professora **Ana Maria Pires Soubhia**, pela oportunidade de ingressar no curso de pós-graduação, pela boa infra-estrutura oferecida, por fazer da FOA uma das melhores escolas do país.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Professora Dra. **Maria José Hitomi Nagata**, e aos funcionários da seção de pós-graduação **Valéria, Cristiane e Lilian**. Muito obrigada pelo carinho.

A todos os professores e funcionários do departamento de **Odontologia Restauradora** por contribuírem com minha formação e conclusão desse trabalho. Muito obrigada!

Agradecimento em especial ao **Peterson**, nosso chefe, pelas ajudas indispensáveis, pela sempre prestativa colaboração com nossos trabalhos. Obrigado pelo convívio.

Agradecimentos

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp. A FOA não seria o sucesso que é se não existissem nos bastidores pessoas tão especiais, muito obrigada!

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – **Fapesp** - Processo 2012/06271-3 pelo financiamento desta pesquisa e pelo apoio financeiro no caráter de bolsa de Mestrado.

De uma maneira geral, agradeço a todos que sempre estiveram comigo e torceram por mim. Muito obrigada!

Epigrafe

Epigrafe

“Aqueles que passam por nós, não vão sós,
não nos deixam sós. Deixam um pouco de si,
levam um pouco de nós.”

Antoine de Saint-Exupéry

Resumo

Franco, L.M. Efeito da microabrasão e do clareamento dental na rugosidade superficial e microdureza do esmalte dental. Estudo longitudinal 'in situ'. [Dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2014.

RESUMO

O objetivo deste trabalho *in situ* foi avaliar se a associação da microabrasão do esmalte com o clareamento dental causaria danos às propriedades do esmalte dental microabrasionado, através dos testes de rugosidade superficial, de microdureza do esmalte dental e de microscopia eletrônica por varredura. Os fatores em estudo foram: *técnicas* em 5 níveis: controle, microabrasão (Opalustre – Ultradent Products Inc. Utah, USA), clareamento dental (Opalescence Boost PF 38 % - Ultradent Prodcuts Inc. Utah, USA) e a associação dos dois procedimentos (imediate e tardia); assim como o *tempo* de manutenção dos espécimes *in situ*: 0, 1, 3, 7 dias. As variáveis de resposta foram microdureza e a rugosidade superficial. Foram utilizados 50 dentes bovinos hígidos, seccionados em discos de esmalte/dentina com 5,7mm de diâmetro. Os espécimes selecionados foram aleatoriamente divididos em 5 grupos de estudo (n=10): Grupo Controle + 0, 1, 3, 7 dias *in situ*; GI Clareamento + 0, 1, 3, 7 dias *in situ*; GII Microabrasão + 0, 1, 3, 7 dias *in situ*; GIII Microabrasão + Clareamento + 0, 1, 3, 7 dias *in situ* e GIV Microabrasão + 0, 1, 3, 7 dias *in situ* + Clareamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância de dois fatores (ANOVA) para medidas repetidas, seguidas pelo teste de Tukey a 5%. Foi observado que a rugosidade superficial do esmalte dental não foi alterada pela realização do clareamento dental com/sem período *in situ*, mas foi significativamente influenciada pela realização da microabrasão associada ou não com o clareamento dental, com/sem período *in situ*. Já a microdureza do esmalte dental, em uma comparação entre grupos, sofreu redução significativa nos grupos onde a microabrasão do esmalte foi realizada, independente da associação com o clareamento dental; sendo que

após o período *in situ* observou-se o reestabelecimento da microdureza inicial do esmalte. Conclui-se que a associação da microabrasão do esmalte com o clareamento dental não causa maiores danos as propriedades do esmalte dental microabrasionado.

Palavras – Chave: Microabrasão do Esmalte; Clareamento Dental; Esmalte dental; Teste de Dureza.

Abstract

Franco, L.M. Effect of microabrasion and dental bleaching in surface roughness and hardness of dental enamel. *In situ* longitudinal study [thesis]. Araçatuba: UNESP - São Paulo State University; 2014.

ABSTRACT

The aim of this *in situ* study was to evaluate if the association of microabrasion enamel with dental bleaching causes damage to microabraded enamel properties, through the surface roughness, hardness of dental enamel and scanning electron microscopy tests. The factors under study were: procedure on 5 levels: control, microabrasion (Opalustre - Ultradent Products Inc. Utah, USA), dental bleaching (Opalescence Boost PF 38 % - Ultradent Products Inc. Utah, USA) and the association of the two procedures (immediate and late), as well as the maintenance time of the specimens *in situ*: 0, 1, 3, 7 days. The response variables were microhardness and surface roughness. Fifty healthy bovine teeth were used, sectioned into discs of enamel/dentin with 5.7 mm diameter. The selected specimens were randomly divided into 5 groups (n=10): control group + 0, 1, 3, 7 days *in situ*; GI dental bleaching + 0, 1, 3, 7 days *in situ*; GII Microabrasion + 0, 1, 3, 7 days *in situ*; GIII Microabrasion + dental bleaching + 0, 1, 3, 7 days *in situ* and GIV Microabrasion + 0, 1, 3, 7 days *in situ* + dental bleaching. The results were subjected to two way repeated measures ANOVA for followed by the Tukey test at 5 %. It was observed that the enamel roughness surface was not altered by dental bleaching, with/without *in situ* period, but was significantly influenced by microabrasion, associated or not with dental bleaching, with/without *in situ* period; whereas the enamel microhardness, in a comparison between groups, was significantly decreased in the groups where enamel microabrasion was performed, regardless of association with dental bleaching; after the *in situ* period, there was satisfactory reestablishment of enamel microhardness. It can be conclude that the

association of enamel microabrasion with dental bleaching does not cause damage on microabraded enamel properties.

Key - words: Enamel Microabrasion; Dental Bleaching; Dental Enamel; Hardness Test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Obtenção das amostras de esmalte bovino.....	38
Figura 2 - Preparo das amostras de esmalte bovino para realização dos experimentos.....	38
Figura 3 - Set up dos grupos experimentais para análise das variáveis.....	39
Figura 4 - Aplicação do produto microabrasivo Opalustre (Ultradent Products Inc., Utah, EUA).....	41
Figura 5 - Aplicação do gel clareador (Opalescence Boost 38% - Ultradent Products Inc. Utah, USA).....	42
Figura 6 - Leitura das amostras em Rugosímetro perfilômetro portátil SJ-401 (Mitutoyo Kanagawa, Japão).....	42
Figura 7 - Leitura da microdureza superficial das amostras com auxílio de um microdurômetro (HMV 2000 Shimadzu, Tokyo, Japão).....	43
Figura 8 - Imagens em MEV do Grupo Controle; (A) antes e (B) após 7 dias <i>in situ</i> (T4).....	50
Figura 9 - Imagens em MEV do Grupo I; (A) logo após a aplicação do produto clareador (T1) e (B) após 7 dias <i>in situ</i> (T4).....	50
Figura 10 - Imagens em MEV do Grupo II; (A) logo após a aplicação do produto microabrasivo (T1) e (B) após 7 dias <i>in situ</i> (T4).....	51
Figura 11 - Imagens em MEV do Grupo III; (A) logo após a associação dos procedimentos (T1) e (B) após 7 dias <i>in situ</i> (T4).....	51
Figura 12 - Imagens em MEV do Grupo IV; (A) logo após a aplicação do produto microabrasivo (T1) e (B) após 7 dias <i>in situ</i> e aplicação do produto clareador (T4).....	51

Figura 13 - Imagens e gráficos em EDS, após 7 dias *in situ*. (A) Grupo Controle; (B) Sem tratamento; (C) Grupo I.....52

Figura 14 - Imagens e gráficos em EDS, após 7 dias *in situ*. (A) Grupo II; (B) Grupo III; (C) Grupo IV.....53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição das amostras de acordo com os tratamentos superficiais, suas associações, e tempos de manutenção das amostras <i>in situ</i>	36
Tabela 2 - Médias de rugosidade superficial Ra (μm) (desvio padrão).....	47
Tabela 3 - Médias de microdureza (KHN) (desvio padrão).....	48

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Representação gráfica das médias de rugosidade superficial Ra (desvio padrão).....	47
Gráfico 2 - Representação gráfica das médias de microdureza KHN (desvio padrão).....	49
Gráfico 3 - Valores da composição química analisada em EDS (% de peso).....	53

SUMÁRIO

1. Introdução	29
2. Proposição	33
3. Materiais e Métodos	35
4. Resultado.....	45
6. Discussão.....	54
7. Conclusão.....	60
Referências.....	62
Anexos.....	68

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A presença de manchas e de irregularidades superficiais no esmalte dental são fatores que podem comprometer de forma significativa a estética dental [1] e que quando localizadas intrinsecamente nas camadas superficiais do esmalte poderão ser removidas através da aplicação da técnica de microabrasão. Tal técnica, além de proporcionar uma estética satisfatória, permite, entre outras considerações, uma perda insignificante de esmalte dental [1-3]; condições evidenciadas por diversos trabalhos científicos presentes na literatura [1-6].

Entretanto, a microabrasão do esmalte dental, por promover uma microrredução da superfície adamantina [1, 2], em algumas circunstâncias, após a sua realização, os dentes microabrasionados poderão adquirir uma coloração mais escura, pelo fato de a superfície de esmalte remanescente permanecer-se mais delgada, transparecendo com maior evidência o tecido dentinário. De encontro com essa possibilidade clínica, diversos relatos têm sugerido a sua associação com o clareamento dentinário com produtos clareadores a base de peróxido, que podem melhorar, consideravelmente, o padrão de cor da estrutura dental [1, 3], propiciando melhora na aparência e maior índice de satisfação do paciente, que quando realizado apenas a microabrasão do esmalte [7].

Sundfeld et al. em 1991 [6] e em 2007 [2] observaram, clinicamente, com o passar do tempo, que a superfície do esmalte dental dos dentes que foram submetidos à microabrasão, apresentam uma considerável lisura e regularidade no esmalte, decorrentes, possivelmente, da compactação de substâncias minerais provenientes da ação erosiva e abrasiva do composto microabrasivo na superfície do esmalte dental [8-13]; assim como

uma maior resistência à desmineralização [10] e a colonização por *Streptococcus mutans* [2, 10]. Por outro lado, em se tratando de dentes clareados, estudos têm observado uma menor resistência a desmineralização [14], aumento da rugosidade, diminuição da microdureza, além de consideráveis alterações histomorfológicas do elemento dental [15-17].

Com o intuito de quantificar os danos causados ao esmalte dental submetido a situações abrasivas e/ou erosivas, a microdureza, a rugosidade superficial e a microscopia eletrônica por varredura (MEV) mensuram perdas e alterações na estrutura dental de formas diferentes [18]. A microdureza mensura a resistência do substrato à penetração de uma ponta, posicionada perpendicularmente à superfície testada, sendo uma análise quantitativa simples e precisa [18, 19]. A MEV trata-se de uma análise qualitativa essencial para analisar mudanças superficiais e microestruturais em superfícies tratadas [18], fornecendo informações sobre a composição química da superfície e sua topografia, através da dispersão de elétrons na superfície da amostra [20]. Já a rugosidade superficial, é capaz de quantificar o desvio observado na superfície dental em relação à sua forma inicial; com o desvio grande representando uma superfície rugosa e o pequeno uma superfície lisa [20].

É de conhecimento que estudos laboratoriais são de fundamental importância para o direcionamento de trabalhos clínicos, entretanto poderão limitar a comparação dos resultados obtidos, além de não permitir extrapolá-los para uma condição clínica, em que os dentes são continuamente submetidos aos ciclos de desmineralização e remineralização [15, 21-24].

Seguindo essa linha de raciocínio, uma outra condição experimental de possível realização encontra-se nos estudos *in situ*, que representam uma etapa intermediária entre os experimentos laboratoriais e clínicos [15, 24, 25] destacando que a sua condução

fundamenta-se na tentativa de reproduzir o processo a ser estudado sob influência de fatores biológicos, como o efeito protetor da saliva [24, 26]. Além disso, os modelos intrabuciais empregados neste tipo de experimento possibilitam uma proximidade com a realidade clínica, assim como preservam a sensibilidade dos modelos laboratoriais, uma vez que as análises podem ser realizadas fora da cavidade bucal utilizando métodos sensíveis e precisos [24].

Diante destes argumentos e observações, julgamos interessante a execução desse estudo *in situ* para observar se a associação da microabrasão do esmalte com o clareamento dental causaria danos as propriedades do esmalte dental microabrasionado.

Hipótese Nula: A associação da microabrasão do esmalte com o clareamento dental não influencia nas características de microdureza e rugosidade superficial de dentes microabrasionados.

Proposição

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi observar se a associação da microabrasão do esmalte com o clareamento dental causa danos a propriedades do esmalte dental microabrasionado.

Materiais e Métodos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento Experimental

Cinquenta unidades experimentais de esmalte bovino fizeram parte deste estudo *in situ*. Os fatores em estudo foram: *técnicas* em 5 níveis, controle, microabrasão (Opalustre – Ultradent Products Inc. Utah, USA), clareamento dental (Opalescence Boost PF 38 % - Ultradent Prodcuts Inc. Utah, USA) e a associação dos dois procedimentos (imediata e tardia); assim como o *tempo* de manutenção dos espécimes *in situ*: 0, 1, 3 e 7 dias após e entre a associação dos procedimentos operatórios propostos. As variáveis de resposta foram microdureza e a rugosidade superficial (Tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição das amostras de acordo com os tratamentos superficiais, suas associações e tempos de manutenção das amostras *in situ*.

Grupos Tempo	CONTROLE	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV
T0	Baseline	Baseline	Baseline	Baseline	Baseline
T1	S/ tratamento	Clareamento	Microabrasão	Microabrasão + Clareamento	Microabrasão
T2	1 dia <i>in situ</i>	1 dia <i>in situ</i>	1 dia <i>in situ</i>	1 dia <i>in situ</i>	1 dia <i>in situ</i>
T3	3 dia <i>in situ</i>	3 dias <i>in situ</i>	3 dias <i>in situ</i>	3 dias <i>in situ</i>	3 dias <i>in situ</i>
T4	7 dia <i>in situ</i>	7 dias <i>in situ</i>	7 dias <i>in situ</i>	7 dias <i>in situ</i>	7 dias <i>in situ</i> + Clareamento

Preparo dos Espécimes

Cinquenta dentes bovinos hígidos foram limpos, desinfetados com timol 0,1% e submetidos a polimento inicial com pedra pomes e água. Após, foram seccionados na junção esmalte/cimento, com o auxílio de um disco de diamante montado em cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 4000; Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) (Figura 1). Do terço méso/cervical de cada porção coronária foram cortadas discos de esmalte/dentina com 5,7mm de diâmetro, com o auxílio de uma ponta diamantada para corte de vidro (Dinser Ferramentas Diamantadas Ltda., Sacomã, SP, Brasil) montada em furadeira de bancada FGC-16 (Ferrari, São Paulo, SP, Brasil), sob constante irrigação (Figura 1). Posteriormente, os espécimes obtidos foram fixados, exceto a porção de esmalte, em blocos de resina de poliestireno, para facilitar o seu manuseio durante a suas planificações com lixas (Figura 2).

Em seguida, a face vestibular foi desgastada e polida com discos abrasivos de granulação 600, 800, 1200 (Special Silicon Carbide – Buehler, Illinois, USA), montados em Politriz Aropol E (Arotec Indústria e Comércio Ltda., Cotia, São Paulo, SP, Brasil), movida em 200 rpm, com carga de 100 gramas e sob irrigação de água destilada (Figura 2). O polimento final foi realizado com auxílio de um disco de feltro umedecido com pasta de diamante de 6, 3 e 1 mm (Extec Corp., Enfield, EUA) durante 03 minutos. Entre um disco e outro, os espécimes foram colocadas por 06 minutos em uma cuba de ultra-som, para a remoção de resíduos presentes na superfície do esmalte.

Figura 1 – Obtenção dos espécimes de esmalte bovino.

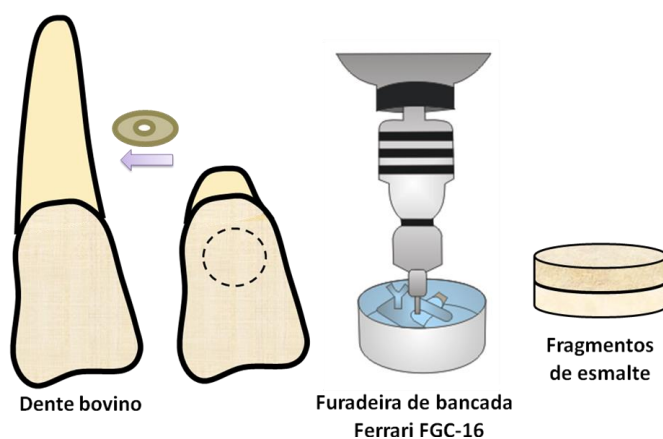
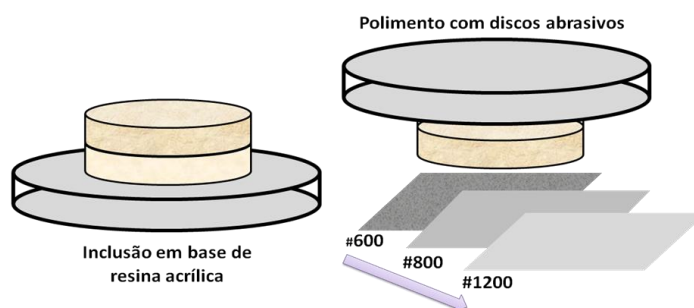


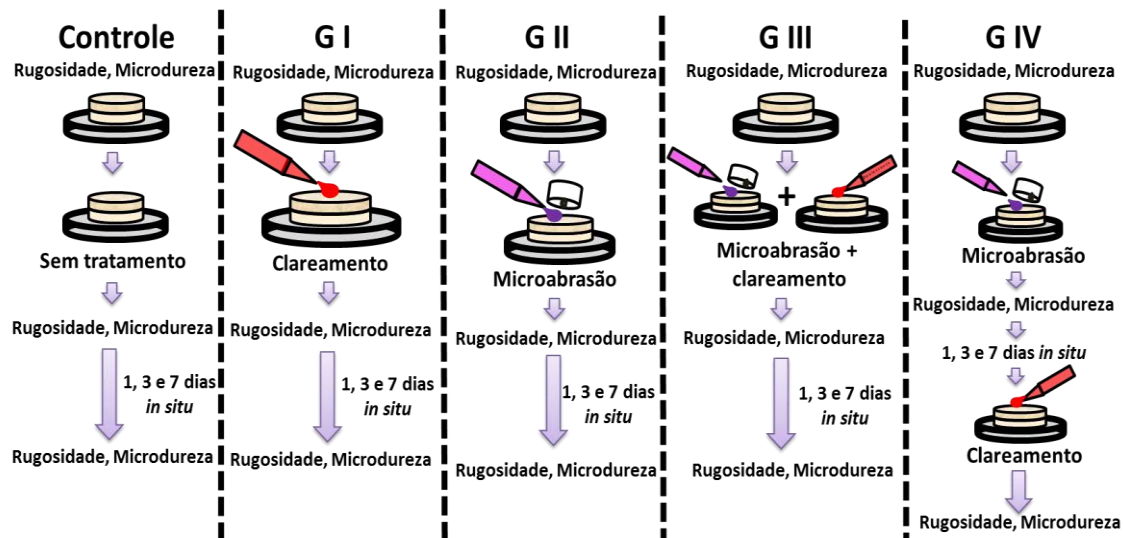
Figura 2 – Preparo dos espécimes de esmalte bovino para realização dos experimentos.



Grupos de estudo

Foram utilizados 50 espécimes que foram divididos em 5 grupos de estudo com 10 espécimes em cada. Os procedimentos foram realizados de acordo com o esquematizado na figura 3.

Figura 3 – Set up dos grupos experimentais para análise das variáveis.



Aspectos éticos e seleção dos voluntários

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – SP (Anexo 1). Foram selecionados 10 voluntários, com idade compreendida entre 18 e 25 anos e pertencentes ao Curso de Graduação e Pós Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Os voluntários foram selecionados através de anamnese e exame clínico, preenchendo os critérios de inclusão (fluxo salivar normal, ausência de cárie e doença periodontal, higiene bucal adequada, ausência de distúrbios de ordem digestiva e com disponibilidade de comparecer a Faculdade nos dias pré-agendados para a realização da parte laboratorial) bem como sem violar os critérios de exclusão (voluntárias/os que fazem uso rotineiro de álcool e fumantes, com aparelho ortodôntico, próteses fixas, removíveis e portadores de doenças sistêmicas, e voluntárias grávidas ou lactantes). Os voluntários selecionados receberam esclarecimentos verbalmente detalhados e por

escrito do estudo; depois de confirmada a sua participação, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2), e receberam um kit contendo escova de dente Colgate Extra Clean, fio dental Colgate, pasta dental Colgate Total 12 (Colgate - Palmolive Ind. e Com. Ltda.,) um estojo plástico para guardar o aparelho e uma lista de orientações (Anexo 3).

Preparo do Dispositivo Intrabucal Palatino

Após a seleção das moldeiras de estoque, o arco superior dos pacientes foi moldado com alginato, para em sequência o modelo ser obtido com gesso pedra. Posteriormente, os dispositivos palatinos foram confeccionados em resina acrílica auto-polimerizável, contendo 5 nichos na superfície externa, onde foram posicionados e fixados os espécimes com o auxílio de cera pegajosa.

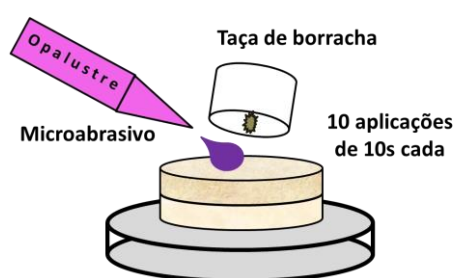
Procedimentos microabrasivo e clareador

Microabrasão do Esmalte Dental

O produto microabrasivo Opalustre (Ultradent Products Inc., Utah, EUA) foi aplicado na superfície do esmalte dental do espécime confeccionado, em quantidade padronizada para todos os blocos, empregando, para tanto, uma colher de dosagem. Sua aplicação foi realizada com auxílio de uma taça de borracha abrasiva montada em contra ângulo com redutor de velocidade 10:1 (Ultradent Products Inc. Utah, USA) (Figura 4). Um total de 10 aplicações do microabrasivo foram realizadas, pelo tempo de 10 segundos cada e com um intervalo de 10 segundos entre cada aplicação. As amostras foram lavadas e secas entre cada aplicação. Após os procedimentos

microabrasivos foi realizado o polimento das amostras com pasta fluoretada (Herjos F, Vigodent AS. Ind e Com., Rio de Janeiro, Brazil) com auxílio de uma taça de borracha, pelo tempo de 2 minutos com intervalos de 30 segundos, seguido da lavagem e secagem. Na sequência, os blocos foram colocados em uma cuba ultrasônica por 06 minutos.

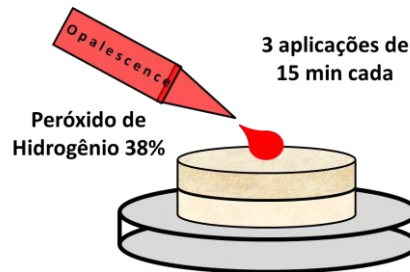
Figura 4 – Aplicação do produto microabrasivo Opalustre (Ultradent Products Inc., Utah, EUA).



Clareamento dental

O gel clareador a base de peróxido de hidrogênio a 38% (Opalescence Boost PF 38% - Ultradent Products Inc. Utah, USA) foi aplicado e mantido em contato com a estrutura de esmalte dental vestibular de cada amostra pelo tempo de 15 minutos; após esse tempo o gel foi removido com pequenas bolas de algodão, lavado e seco. Foram feitas 3 aplicações do gel clareador (Figura 5), de acordo com recomendações do fabricante. Após a aplicação do gel clareador as amostras foram lavadas com jatos de água e secas com jatos de ar, e em sequência os blocos foram colocados em uma cuba ultrasônica por 06 minutos.

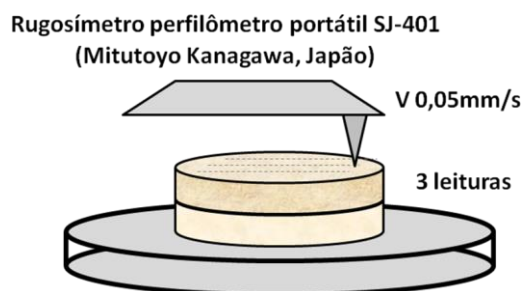
Figura 5 – Aplicação do gel clareador (Opalescence Boost 38% - Ultradent Products Inc. Utah, USA).



Análise da Rugosidade Superficial

As amostras foram submetidas à leitura inicial de rugosidade superficial com auxílio do rugosímetro perfilômetro portátil SJ-401 (Mitutoyo Kanagawa, Japão) com o Ra o padrão de rugosidade utilizado, que representa a média aritmética entre os picos e vales registrados. Foi utilizado um cut-off de 0,25mm, necessário para maximizar a filtragem da ondulação superficial, com carga de estática de 5N e velocidade de 0,05mm/s. Em cada superfície foram efetuadas três leituras em diferentes posições, equidistantes entre si, para o cálculo da média aritmética, previamente (T0), imediatamente após os procedimentos (T1) e após um (T2), três (T3) e sete (T4) dias *in situ*. (Figura 6).

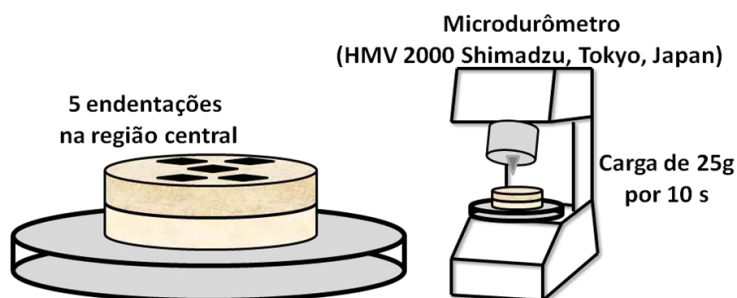
Figura 6 – Leitura das amostras em Rugosímetro perfilômetro portátil SJ-401 (Mitutoyo Kanagawa, Japão).



Análise da Microdureza Superficial Knoop

Para a análise da microdureza do esmalte, as amostras foram submetidas a leituras de microdureza superficial com auxílio de um microdurômetro (HVM 2000 Shimadzu, Tokyo, Japão), com carga estática de 25g por 10 segundos (Figura 7). Em cada tempo de análise, foram realizadas cinco endentações na região central da superfície da amostra com distância de 100 μ m entre cada endentação. As mensurações foram realizadas previamente (T0), imediatamente após os procedimentos (T1) e após um (T2), três (T3) e sete (T4) dias *in situ*.

Figura 7 – Leitura da microdureza superficial das amostras com auxílio de um microdurômetro (HVM 2000 Shimadzu, Tokyo, Japão).



Análise em MEV e EDS

As cinco amostras mais representativas de cada grupo foram selecionadas e preparadas para a leitura microscópio eletrônico de varredura (Evo LS15, Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha), que após desidratação gradativa em álcool, foram recobertas com uma camada de ouro-paládio em metalizador (Balzers SCD-050 sputter coater, OC Oerlikon Corporation AG, Pfäffikon, Suíça).

As amostras também foram analisadas em espectrômetro de energia dispersiva (Inca X-act Energy 250, Oxford Instruments, Abingdon - Oxfordshire, Reino Unido)

acoplado ao microscópio eletrônico de varredura, que, além de imagem, fornece informação adicional da superfície, permitindo a análise da variação química das superfícies tratadas ou não. Essa análise foi realizada somente após os 7 dias *in situ* em espécimes correspondentes a cada grupo e em espécimes sem tratamento algum. As substâncias analisadas foram carbono (C), oxigênio (O), fósforo (P) e cálcio (Ca).

As imagens mais representativas de cada grupo foram arquivadas para ilustração e não submetidas a qualquer tratamento estatístico.

Análise estatística

Os dados obtidos nas análises de rugosidade superficial e microdureza do esmalte dental foram submetidos aos testes de normalidade e subsequente análise estatística apropriada, ao nível de significância de 5%.

Resultados

4. RESULTADOS

Após a tabulação e organização dos dados, foi aplicado através do programa estatístico “SigmaPlot 12.0,” a análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas, considerando os fatores “*técnicas*” em cinco níveis e o fator “*tempo*” com os cinco níveis para medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

Rugosidade Superficial

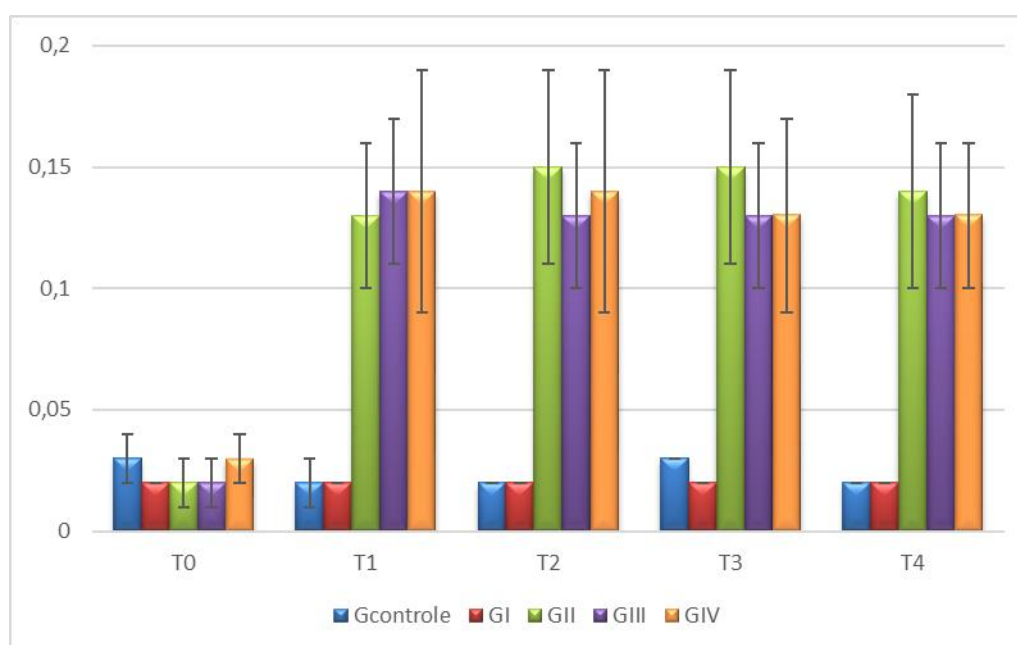
A aplicação da análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas considerando dois fatores, demonstrou haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos de estudo e tempos de análise. Para verificar onde essas diferenças ocorreram foi aplicado o Teste de Tukey a 5% (Tabela 2 e Gráfico 1). No baseline, não foi observada diferença estatística entre todos os grupos estudados, mas o foi imediatamente após a microabrasão (GII) e de sua associação com o clareamento dental (GIII e GIV), apresentando médias maiores do que o baseline, mas significativamente semelhantes entre si, dentro dos períodos T1, T2, T3 e T4. O grupo controle e o que recebeu apenas o clareamento dental (GI) apresentaram médias de rugosidade estatisticamente semelhantes entre si, dentro e entre cada período *in situ* considerado. Com isso, o clareamento dental apenas não foi capaz de promover alterações significativas na rugosidade superficial do esmalte dental, enquanto que a realização da microabrasão e suas associações com o clareamento dental o foram.

Tabela 2 - Médias de rugosidade superficial Ra (μm) (desvio padrão).

	T0 (baseline)	T1 (imediatO)	T2 (1 dia)	T3 (3 dias)	T4 (7 dias)
Controle	0,05 (0,03) A,a	0,02 (0,01) A,a	0,02 (0,00) A,a	0,03 (0,00) A,a	0,02 (0,00) A,a
Grupo I	0,02 (0,00) A,a	0,02(0,00) A,a	0,02 (0,00) A,a	0,02 (0,00) A,a	0,02 (0,00) A,a
Grupo II	0,02 (0,01) A,a	0,13 (0,03) B,b	0,14 (0,04) B,b	0,15 (0,04) B,b	0,14 (0,04) B,b
Grupo III	0,02 (0,01) A,a	0,14 (0,03) B,b	0,13 (0,03) B,b	0,13 (0,03) B,b	0,13 (0,03) B,b
Grupo IV	0,03 (0,01) A,a	0,14 (0,05) B,b	0,14(0,05) B,b	0,13 (0,04) B,b	0,13 (0,03) B,b

(*) As médias, seguidas de letras diferentes (maiúsculas nas verticais e minúsculas nas horizontais), diferem de acordo com a análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$).

Gráfico 1 – Representação gráfica das médias de rugosidade superficial Ra (desvio padrão).



Microdureza

Quando analisados o grupo controle e o GI (clareamento dental), dentro de cada tempo de análise, não foi observado diferença estatisticamente significativa entre eles, demonstrando com isso que o clareamento dental não influenciou a microdureza do esmalte (Tabela 3 e Gráfico 2).

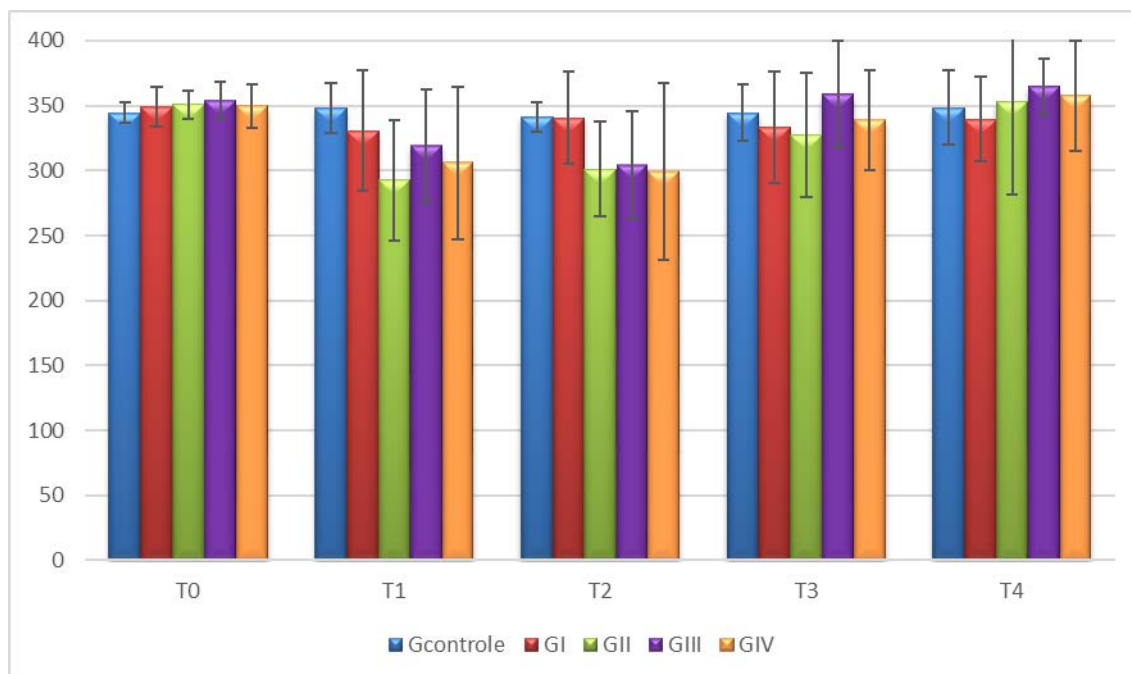
Dentro dos tempos T0 (Inicial), T3 (3 dias) e T4 (7 dias) os grupos de estudo foram estatisticamente semelhantes entre si, não apresentando alteração na microdureza superficial do esmalte. Podendo levantar, com isso, que nestes tempos considerados, a realização apenas da microabrasão ou do clareamento dental, assim como a associação desses procedimentos, não influenciaram significativamente os valores de microdureza do esmalte dental. Em relação aos tempos imediatamente (T1) e 1 dia após (T2), foi observado uma média de microdureza maior e significativa para os grupos controle e o que recebeu o clareamento dental (GI), quando confrontados com os que receberam apenas a microabrasão (GII) e suas associações com o clareamento dental (GIII e GIV), as quais apresentaram-se estatisticamente semelhantes entre si. Verificou-se, ainda, um aumento gradativo da média de microdureza até 7 dias após a realização dos procedimentos (T4) nos grupos II, III e IV, aproximando-se dos valores observados nos tempos iniciais (T0), podendo inferir, com isso, que elas sofreram influência positiva do período dos períodos *in situ* considerados.

Tabela 3 – Médias de microdureza (KHN) (desvio padrão).

	T0 (baseline)	T1 (imediato)	T2 (1 dia)	T3 (3 dias)	T4 (7 dias)
Controle	344 (7,97) A,a	348 (19,52) B,a	341 (11,17) B,a	344 (21,85) A,a	348 (28,61) A,a
Grupo I	349 (15,73) A,a	341 (46,53) B,a	341 (35,85) BA,a	333 (43,12) A,a	339 (32,61) A,a
Grupo II	351 (11,03) A,b	293 (46,47) A,a	301 (36,36) A,ab	328 (47,82) A,ab	353 (71,15) A,b
Grupo III	354 (14,49) A,ab	319 (43,16) B,ab	304 (41,57) A,a	359 (40,93) A,b	365 (21,38) A,b
Grupo IV	349 (16,74) A,ab	306 (59,02) AB,b	300 (68,08) A,b	339 (38,87) A,ab	358 (42,20) A,a

(*) As médias, seguidas de letras diferentes (maiúsculas nas verticais e minúsculas nas horizontais), diferem de acordo com a análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$).

Gráfico 2– Representação gráfica das médias de microdureza KHN (desvio padrão).



Microscopia Eletrônica por Varredura

Imagens representativas de cada grupo mostraram, no Grupo Controle uma superfície lisa, sem alterações ou sinais de descalcificação (Figura 8A); no grupo que recebeu apenas o clareamento dental (GI) observou-se que a superfície de esmalte não sofreu alterações significativas (Figura 9A); no grupo que recebeu apenas microabrasão (GII), notou-se o efeito do procedimento microabrasivo, observando sinais de descalcificação da superfície do esmalte e algumas ranhuras presentes na estrutura (Figura 10A), características essas que não foram acentuadas quando feita a associação imediata dos dois procedimentos (GIII) (Figura 11A). Após 7 dias do período *in situ*, observou-se que as alterações visualizadas logo após a microabrasão (GII) ou sua associação com o clareamento (GIII), foram significativamente reduzidas (Figura

10B; Figura 11B), e não foi observado alterações significativas quando aplicado o produto clareador, após o período *in situ*, no espécime microabrasionado (GIV) (Figura 12B).

Figura 8: Imagens em MEV do Grupo Controle; (A) antes e (B) após 7 dias *in situ* (T4).

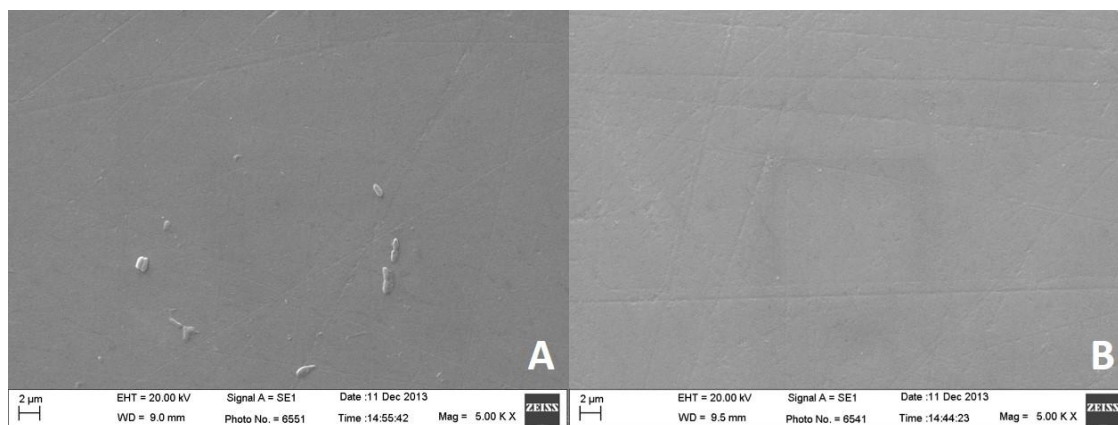


Figura 9: Imagens em MEV do Grupo I; (A) logo após a aplicação do produto clareador (T1) e (B) após 7 dias *in situ* (T4).

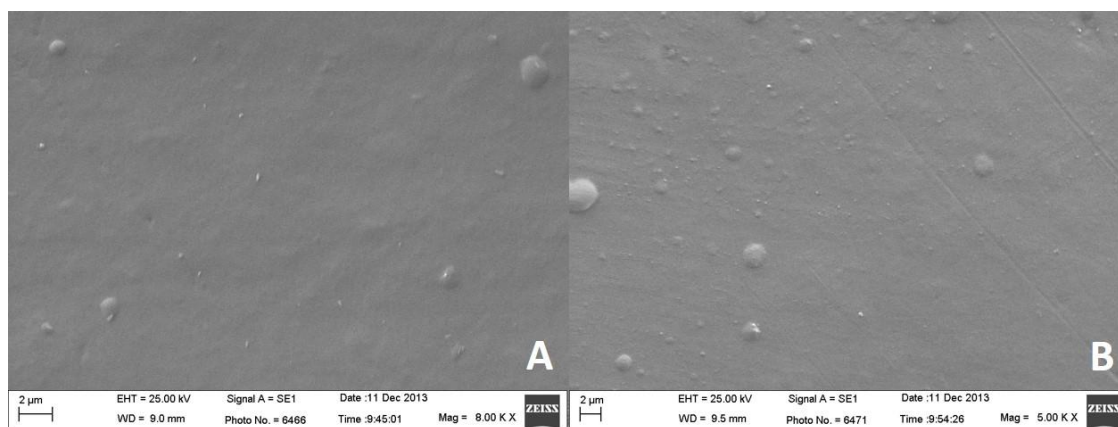


Figura 10: Imagens em MEV do Grupo II; (A) logo após a aplicação do produto microabrasivo (T1) e (B) após 7 dias *in situ* (T4).

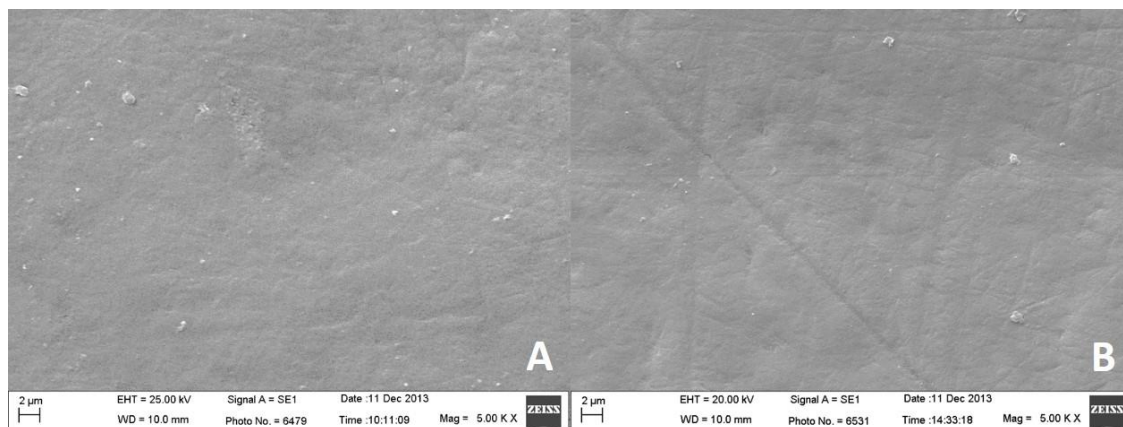


Figura 11: Imagens em MEV do Grupo III; (A) logo após a associação dos procedimentos (T1) e (B) após 7 dias *in situ* (T4).

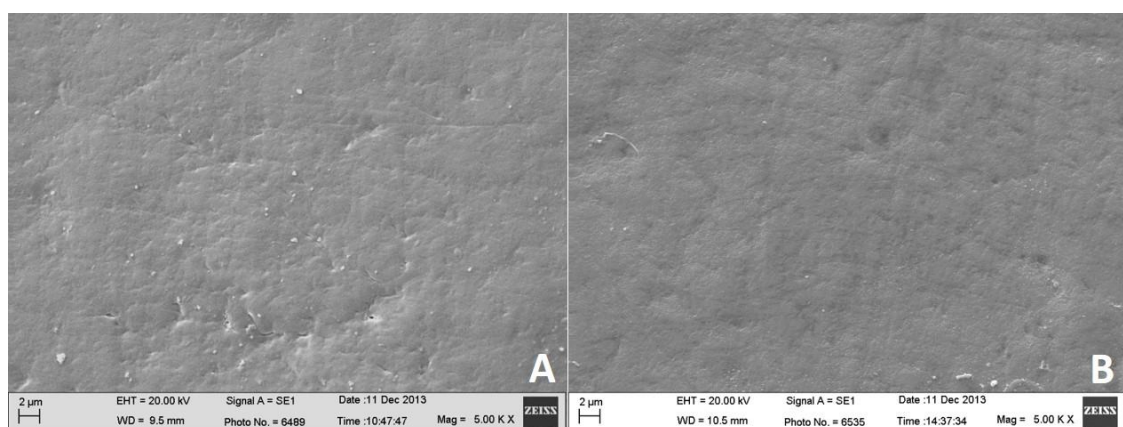
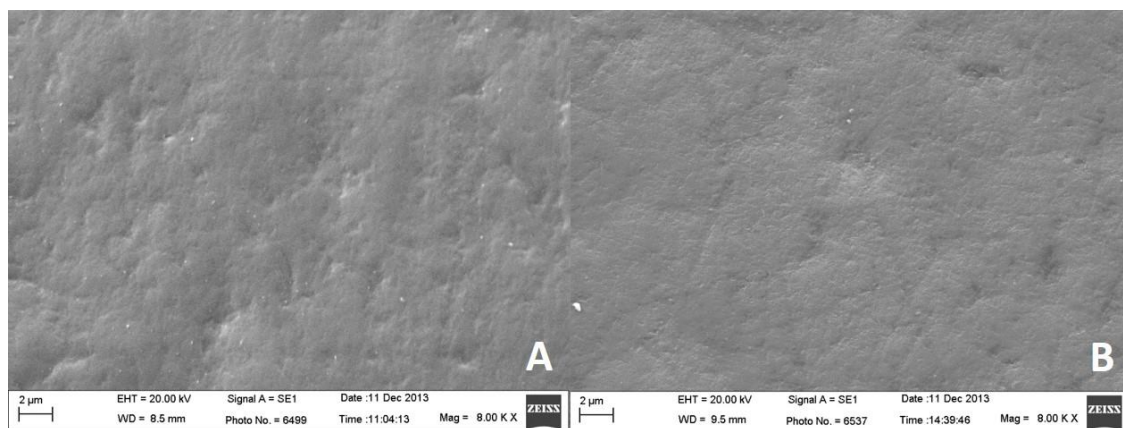


Figura 12: Imagens em MEV do Grupo IV; (A) logo após a aplicação do produto microabrasivo (T1) e (B) após 7 dias *in situ* e aplicação do produto clareador (T4).



Espectrômetro de Energia Dispersiva

Com a caracterização química da superfície das amostras, observou-se não haver diferença na quantidade, relacionada a porcentagem de peso, dos compostos químicos analisados, entre todos os grupos estudados, após o período *in situ*.

Figura 13 – Imagens e gráficos em EDS, após 7 dias *in situ*. (A) Grupo Controle; (B) Sem tratamento; (C) Grupo I.

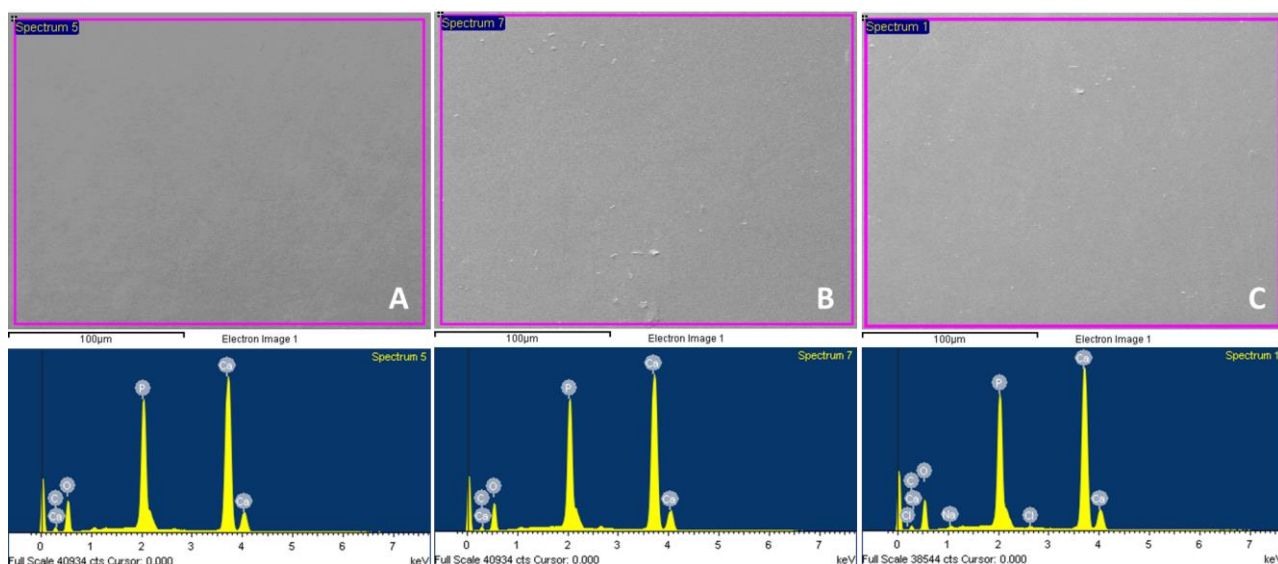


Figura 14 – Imagens e gráficos em EDS, após 7 dias *in situ*. (A) Grupo II; (B) Grupo III; (C) Grupo IV.

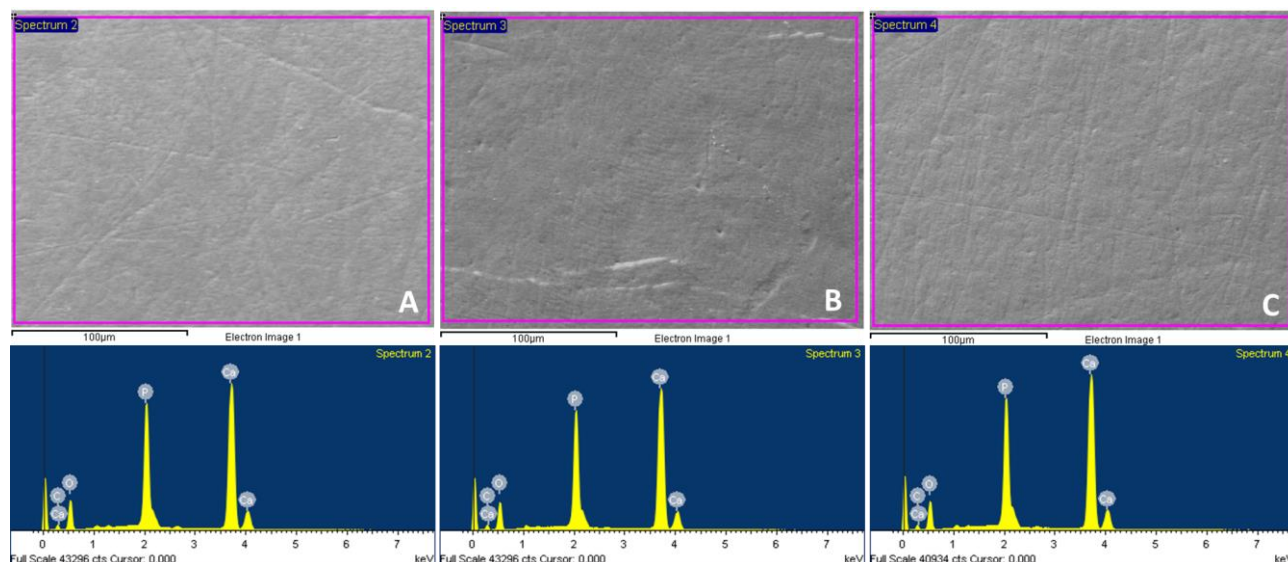
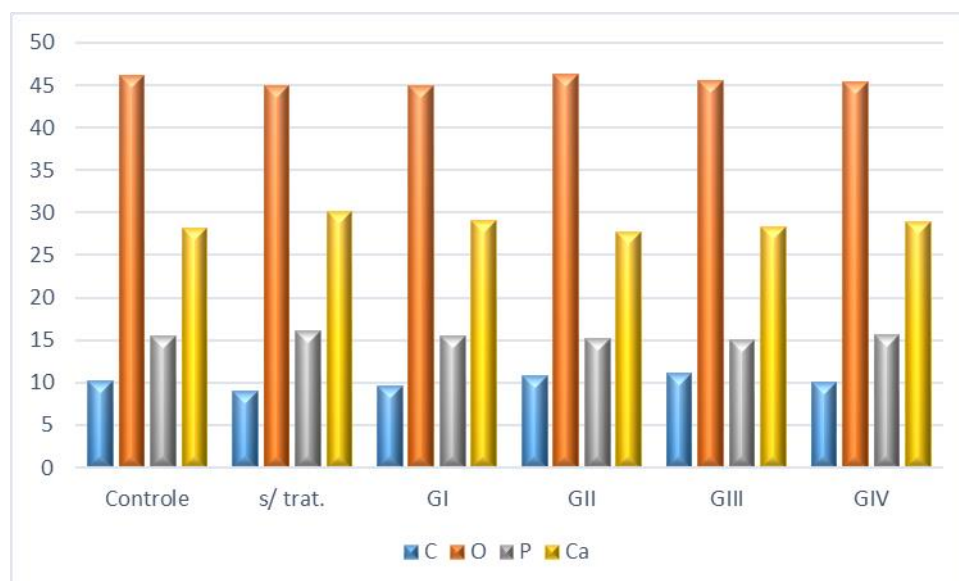


Gráfico 3 – Valores da composição química analisada em EDS (% de peso).



Discussão

DISCUSSÃO

A hipótese nula proposta pode ser aceita, pois a associação da microabrasão do esmalte com o clareamento dental não influenciou negativamente nas características de microdureza e rugosidade superficial de dentes microabrasionados.

Observou-se nos grupos de estudo redução da microdureza do esmalte dental após a realização da técnica da microabrasão do esmalte e de sua associação com o clareamento dental, com/sem o período *in situ*. A redução evidenciada após a realização dos procedimentos de microabrasão deve estar intimamente relacionada com a presença de ácido clorídrico a 6,6% no composto microabrasivo; uma vez que a remoção da mancha de esmalte através da aplicação desse procedimento é dependente, entre outros fatores, da ação erosiva do componente ácido que o produto microabrasivo apresenta [2, 3, 5, 11], podendo, com isso, justificar a redução do grau de mineralização do esmalte superficial após a aplicação do produto. Esse resultado está de acordo ao encontrado por outros autores [17, 27, 28].

Entretanto, após 3 dias de regime *in situ*, observou-se um aumento significativo da microdureza do esmalte nos grupos onde havia ocorrido a sua diminuição; destacando que no tempo final esses valores não se diferiram dos encontrados no baseline e no grupo controle, sugerindo que a recomposição mineral nos espécimes foi suficiente para a ocorrência da remineralização superficial adequada do esmalte dental [27].

A interação da saliva humana com os componentes do produto microabrasivo pareceu ser significativa, no que se refere à sua ação remineralizante em esmalte

microabrasionado, salientando que o baixo valor do pH do ácido clorídrico pode promover o aumento da dureza e a captação de fluoreto [19, 29]. Além desse levantamento, a compactação de partículas de sílica no esmalte dental pode resultar no composto biotivo silicato tricálcico (Ca_3SiO_5), que induz a formação de nova camada de apatita em esmalte condicionado [30], colaborando também, com a dureza do esmalte. Assim, a presença do fluído externo parece ser, significativamente, decisiva e relevante para avaliar os efeitos reais da microabrasão do esmalte. Vale destacar que têm sido observado clinicamente, ao longo dos anos, que o esmalte dental que foi microabrasionado tem adquirido um excelente aspecto clínico, quer com relação a sua textura, brilho e resistência a instalação de lesões de cárie [2, 9, 10].

Com o intuito de otimizar a remineralização de esmalte microabrasionado, clinicamente têm sido recomendado a aplicação tópica de fluoreto de sódio gel neutro por 4 minutos, imediatamente após a realização da técnica de microabrasão do esmalte [1-3, 10, 12-14]. Silverstone et al., em 1977 [31], reportou que a remineralização do esmalte é possível com a aplicação de 1ppm de fluoreto de sódio que aumenta significativamente a microdureza superficial do esmalte; salientaram, ainda, que a saliva humana contém de 20 a 100 vezes menos fluoreto de sódio do que a concentração de um 1ppm.

Quando realizada a associação, imediata ou tardia (GIII e GIV, respectivamente), dos procedimentos de microabrasão com o clareamento dental, também observou-se a ocorrência de uma diminuição significativa dos valores de microdureza do esmalte, mas esses não foram significativamente diferentes dos

encontrados após a realização somente da microabrasão (GII); destacando que a realização apenas do clareamento dental (GI) não alterou os valores de microdureza do esmalte, podendo-se inferir que o clareamento dental não prejudicou significativamente a superfície do esmalte microabrasionado.

Estudos laboratoriais [32-34] têm apresentado indícios de redução da microdureza de esmalte após o procedimento de clareamento dental, alegando, entre outras considerações, que o gel clareador pode degradar ou desnaturar as proteínas de maior peso molecular presentes nas estruturas dentais, possibilitando, assim, a perda da matriz orgânica e mineral. Entretanto, através de uma revisão, Attin et al., em 2009 [32], afirmaram que as condições laboratoriais (*in vitro*) possivelmente não são favoráveis para avaliar os reais efeitos do clareamento dental e que estudos que mais se aproximam das condições intra-orais, como nos estudos *in situ*, têm demonstrado que as reduções de microdureza do esmalte após o clareamento dental parecem ser insignificantes [16], além de não afetar o esmalte dental em relação ao desgaste e a microdureza [35].

Assim como no estudo de Tong et al., em 1993 [28], não foi observado alterações ou perda superficial mensurável em esmalte dental no presente estudo, bem como diminuição da microdureza do esmalte somente clareado (GI), o que pode ser justificado pelo fato de o pH do produto clareador utilizado ser básico (7,52), uma vez que produtos clareadores com baixos valores de pH, podem causar desmineralização do esmalte [33, 36]. Além disso, devemos considerar também a ação tamponante do bicarbonato e do fosfato, presentes na saliva humana, que impediriam

a queda do pH [37-39]. Da mesma forma, vale considerar ainda que, juntamente com o conteúdo mineral da saliva, o tampão de bicarbonato pode facilitar a deposição de fosfato e cálcio sobre a superfície do esmalte, reduzindo sua perda [40, 41].

Em se tratando da rugosidade superficial das amostras, verificou-se que ela alterou, significativamente, quando a técnica da microabrasão foi realizada, o que pode ser justificado pela ação erosiva e abrasiva proporcionada pelos componentes do produto microabrasivo, como o ácido hidrocloreídrico e partículas de sílica carbide, respectivamente; responsáveis, estes, pela superfície de esmalte irregular obtida quando comparada com uma superfície sem este tratamento. Porém, acreditamos que, de acordo com os valores de rugosidades superficiais verificados, as alterações superficiais observadas após a microabrasão do esmalte, possivelmente não levem a uma alteração prejudicial, clinicamente significativa ao esmalte dental [1, 2, 5, 10, 13].

Apesar das boas e seguras evidências clínicas longitudinais dos efeitos da técnica da microabrasão na morfologia da superfície de esmalte dental [1-6, 8-10] e de acordo com os resultados de rugosidade obtidos em um curto tempo de análise, como os observados e considerados neste estudo, pode-se inferir que se o tamanho das micropartículas de sílica carbide presentes no microabrasivo utilizado, que variam entre 20–160 μ m [11], fosse reduzido, poderíamos ter obtido, possivelmente, uma superfície de esmalte dental mais lisa após os procedimento de microabrasão do esmalte dental, dados concordantes com os de Fragoso et al., em 2011 [11].

A análise qualitativa feita com o auxílio da microscopia eletrônica por varredura está de acordo com os resultados obtidos pelas análises quantitativas utilizadas nesse

estudo, ilustrando os valores encontrados para microdureza e rugosidade superficial nos grupos que receberam a microabrasão, nos quais, através das imagens, observou-se sinais de desmineralização e irregularidades superficiais característicos à ação erosiva/abrasiva do composto microabrasivo [11]. Assim como, não foi identificado alterações morfológicas superficiais com a aplicação apenas do agente clareador, também observou-se não haver alterações mais significativas quando associado aos espécimes já microabrasionados.

A análise quantitativa em EDS, que fornece um método específico para determinar a concentração de elementos químicos em superfícies de substrato [42], também mostrou-se de acordo com os resultados encontrados, através do qual observou em todos os grupos, quantidades semelhantes das substâncias analisadas (C, O, P e Ca) independente do procedimento realizado. Esse fato certamente contribuiu para justificar que a saliva humana foi capaz de recompor ou manter a composição química do esmalte dental, após as técnicas avaliadas neste estudo.

Apesar das limitações, fica evidente que a associação com o clareamento dental em dentes microabrasionados não acentua as alterações morfológicas do esmalte provocadas pela a microabrasão. Entretanto, fatores como a sensibilidade e a penetração de peróxido não foram avaliados nesse estudo, abrindo perspectivas para novos estudos.

Conclusão

CONCLUSÃO

De acordo com o delineamento e os resultados desse estudo *in situ*, a associação dos procedimentos de microabrasão com o clareamento dental não acentuam as alterações provocadas pela técnica de microabrasão do esmalte.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Sundfeld RH, Rahal V, Croll TP, De Alexandre RS, Briso AL (2007) Enamel microabrasion followed by dental bleaching for patients after orthodontic treatment--case reports. J Esthet Restor Dent 19:71-77
2. Sundfeld RH, Croll TP, Briso AL, De Alexandre RS, Sundfeld Neto D (2007) Considerations about enamel microabrasion after 18 years. Am J of Dent 20:67-72
3. Sundfeld RH, Komatsu J, Russo M, Holland Júnior C et al (1990) Remoção de manchas no esmalte dental: estudo clínico e microscópico. Rev Bras Odontol 47:29-34
4. Croll TP, Cavanaugh RR (1986) Enamel color modification by controlled hydrochloric acid-pumice abrasion. I. Technique and examples. Quintessence Int 17:81-87
5. Mondelli RFL, Souza e Silva Jr MH, Carvalho RM (2001) Histórico da microabrasão do esmalte. In: Mondelli RFL, Souza e Silva Jr MH, Carvalho RM Odontologia estética: fundamentos e aplicações clínicas. Santos, São Paulo, pp 03-12
6. Sundfeld RH, Komatsu J, Mestrener SR, Holland Júnior C, Quintella LPAS et al (1991) Remoção de manchas e de irregularidades superficiais no esmalte dental. Rev Âmbito Odontol 2:63-66
7. Celik EU, Yildiz G, Yazkan B (2013) Comparison of Enamel Microabrasion with a Combined Approach to the Esthetic Management of Fluorosed Teeth. Oper Dent 38:134-43
8. Killian CM (1993) Conservative color improvement for teeth with fluorosis-type stain. J Am Dent Assoc 124:72-74
9. Segura A, Donly KJ, Wefel JS (1997) The effects of microabrasion on demineralization inhibition of enamel surfaces. Quintessence Int 28:463-466

10. Croll TP (1997) Enamel microabrasion: observations after 10 years. J Am Dent Assoc 128:45S-50S
11. Fragoso LS, Lima DA, De Alexandre RS, Bertoldo CE, Aguiar FH et al (2011) Evaluation of physical properties of enamel after microabrasion, polishing, and storage in artificial saliva. Biomed Mater 6:035001
12. Sundfeld RH, Croll TP, Mauro SJ, Komatsu J, Holland Júnior C (1995) Novas considerações clínicas sobre microabrasão do esmalte dental. Efeitos da técnica e tempo de análise. Rev Brasil Odontol 52:30-36
13. Loguercio AD, Correia LD, Zago C, Tagliari D, Neumann E et al (2007) Clinical effectiveness of two microabrasion materials for the removal of enamel fluorosis stains. Oper Dent 32:531-538
14. Pinto CF, Paes Leme AF, Cavalli V, Giannini M (2009) Effect of 10% carbamide peroxide bleaching on sound and artificial enamel carious lesions. Braz Dent J 20:48-53
15. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC (2007) Micromorphology and surface roughness of sound and desmineralized enamel and dentin bleaching with a 10% carbamine peroxide bleaching agent. Am J Dent 20:97-102
16. Basting RT, Rodrigues AL, Serra MC (2003) The effects of seven carbamide peroxide bleaching agents on enamel microhardness over time. J Am Dent Assoc 134:1335-1342
17. Ulukapi H (2007) Effect of different bleaching techniques on enamel surface microhardness. Quintessence Int 38:e201-205
18. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C (2011) Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. Caries Res 45:13-23
19. Gonzalez-Cabezas C, Jiang H, Fontana M, Eckert G (2012) Effect of low pH on surface rehardening efficacy of high concentration fluoride treatments on non-cavitated lesions. J Dent 40:522-526

20. Field J, Waterhouse P, German M (2010) Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *J Dent* 38:182-90
21. Ernst CP, Briseño M, Zönnchen BM (1996) Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quintessence Int* 27: 53-56
22. Wandera A, Feigal RJ, Douglas WH, Pintado MR (1994) Home-use bleaching agents: An in vitro study on quantitative effects on enamel, dentin, and cementum. *Quintessence Int* 25: 541-546
23. de Freitas PM, Basting RT, Rodrigues JA, Serra MC (2002) Effects of two 10% peroxide carbamida bleaching agents on dentin microhardness at different intervals. *Quintessence Int* 33:370-375
24. de Arruda AM, dos Santos PH, Sundfeld RH, Berger SB, Briso AL (2012) Effect of hydrogen peroxide at 35% on the morphology of enamel and interference in the remineralization process: an in situ study. *Oper Dent* 37:518-25
25. Hoepfner MG, Mauro SJ, Alexandre RS, Sundfeld ML, Sundfeld RH (2010) Evaluation "in situ" of tag formation in dental enamel submitted to microabrasion technique. Effect of two etching times. *Acta Odontol Latinoame* 23:153-157
26. Zero DT (1995) In situ caries models. *Adv Dent Res* 9:214-230, discussion 231-234
27. Pini NIP (2013) Avaliação in vitro e in situ da técnica de microabrasão sobre a microdureza e morfologia do esmalte dental. Dissertação, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba
28. Tong LS, Pang MK, Mok NY, King NM, Wei SH (1993) The effects of etching, microabrasion, and bleaching on surface enamel. *J Dent Res* 72:67-71

29. Buzalaf MA, Hannas AR, Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem AC (2010) pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *J Appl Oral Sci* 18:316-334
30. Wang Y, Li X, Chang J, Wu C, Deng Y (2012) Effect of tricalcium silicate (Ca₃SiO₅) bioactive material on reducing enamel demineralization: An in vitro pH-cycling study. *J Dent* 40:1119-1126
31. Silverstone LM (1977) Remineralization phenomena. *Caries Res* 11:59-84
32. Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F, Wiegand A (2009) Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review. *Dent Mater* 25:143-57
33. Sa Y, Chen D, Liu Y, Wen W, Xu M et al (2012) Effects of two in-office bleaching agents with different pH values on enamel surface structure and color: an in situ vs. in vitro study. *J Dent* 40:26-34
34. Magalhães JG, Marimoto AR, Torres CR, Pagani C, Teixeira SC, Barcellos DC (2012) Microhardness change of enamel due to bleaching with in-office bleaching gels of different acidity. *Acta Odontol Scand* 70:122-6
35. Faraoni-Romano JJ (2008) Avaliação do desgaste superficial do esmalte e da dentina radicular submetido ao tratamento clareador: in vitro e in situ. Tese, Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
36. Soldani P, Amaral CM, Rodrigues JA (2010) Microhardness evaluation of in situ vital bleaching and thickening agents on human dental enamel. *Int J Periodontics Restorative Dent* 30:203-211
37. Justino LM, Tames DR, Demarco FF (2004) In situ and in vitro effects of bleaching with carbamide peroxide on human enamel. *Oper Dent* 29:219-225

38. Helm JF, Dodds WJ, Hogan WJ, Soergel KH, Egide MS, Wood CM (1982) Acid neutralizing capacity of human saliva. *Gastroenterology* 83:69-74
39. Leonard RH Jr, Bentley CD, Haywood VB (1994) Salivary pH changes during 10% carbamide peroxide bleaching. *Quintessence Int*; 25:547-550
40. Dawes C (1969) The effects of flow rate and duration of stimulation on the concentrations of protein and the main electrolytes in human parotid saliva. *Arch Oral Biol* 14:277-94
41. Buzalaf MAR, Hannas AR, Kato MT (2012) Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci* 20:493-502
42. Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO (2008) Ability of different restorative materials to prevent in situ secondary caries: analysis by polarized light-microscopy and energy-dispersive X-ray. *Eur J Oral Sci* 116:375-80

Anexos

ANEXO 1 – Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



PROJETO DE PESQUISA

Título: Efeito da microabrasão e do clareamento dental na rugosidade superficial e microdureza do esmalte dental. Estudo longitudinal "in situ"

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 03843612.4.0000.5420

Pesquisador: Renato Herman Sundfeld

Instituição: Faculdade de Odontologia do Campus de
Araçatuba - UNESP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 95.855

Data da Relatoria: 13/08/2012

Apresentação do Projeto:

Efeito da microabrasão e do clareamento dental na rugosidade superficial e microdureza do esmalte dental. Estudo longitudinal "in situ".

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste trabalho será avaliar a influência do tempo de espera para realização do clareamento dental com peróxido de hidrogênio a 38%, após a realização da microabrasão do esmalte dental, através dos testes de rugosidade superficial e microdureza do esmalte dental. Os fatores em estudo serão: procedimento em 3 níveis e cada voluntário usará o dispositivo em 3 períodos distintos, sendo que, para cada tempo de avaliação, serão utilizadas novas amostras. Com a finalidade de controlar os resultados das variáveis, as análises serão realizadas também em 2 blocagens de 5 voluntários cada. Serão utilizados 160 espécimes que serão divididos em 4 grupos de estudo com 10 espécimes em cada período de análise (0, 1, 3 e 7 dias). As variáveis de resposta serão microdureza e a rugosidade superficial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa utilizará dentes bovinos, que serão seccionados e preparados para permanência por períodos de tempo pré-determinados na cavidade bucal de voluntários. Considera-se o procedimento de risco mínimo, uma vez que os voluntários apenas utilizarão o dispositivo intra-oral e os procedimentos de tratamento das peças serão realizados antes da inserção dos aparelhos nos voluntários. A pesquisa auxiliará na elucidação da melhor maneira de associar os procedimentos microabrasivos e clareadores.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto encontra-se bem fundamentado e o elevado número de indivíduos participantes é justificado pelo amplo número de grupos delineados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória estão de acordo com as normas vigentes.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARAÇATUBA

Telefone: (13)3636-3200

Fax: (13)3636-3332

E-mail: anacmsn@fod.unesp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Recomendações:

nada a declarar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

nada a declarar.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O objetivo deste trabalho será avaliar a influência do tempo de espera para realização do clareamento dental com peróxido de hidrogênio após a realização da microabrasão do esmalte dental, através dos testes de rugosidade superficial e microdureza do esmalte dental. Amostras de dentes bovinos serão utilizadas e acopladas a dispositivos orais que serão colocadas na cavidade oral de voluntários, por períodos de tempo variado. Considera-se o procedimento de risco mínimo, uma vez que os voluntários apenas utilizarão o dispositivo intra-oral e os procedimentos de tratamento das peças serão realizados antes da inserção dos aparelhos nos voluntários. A pesquisa auxiliará na elucidação da melhor maneira de associar os procedimentos microabrasivos e clareadores.

ARACATUBA, 12 de Setembro de 2012

Assinado por:

Ana Cláudia de Melo Stevanato Nakamune

Endereço: JOSE BONIFÁCIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (16)3636-3200

Fax: (16)3636-3332

E-mail: anacm@foa.unesp.br

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ATENÇÃO SENHORES PESQUISADORES: Durante o desenvolvimento do trabalho, o TCLE deverá ser feito em duas vias, sendo que uma via será entregue ao sujeito da pesquisa após ser assinado pelos interessados e a outra ficará em poder do pesquisador responsável.

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Titulo da pesquisa: “Efeito da microabrasão e do clareamento dental na rugosidade superficial e microdureza do esmalte dental. Estudo longitudinal <i>in situ</i>”
Nome do (a) Pesquisador (a): Laura Molinar Franco
Nome do (a) Orientador (a): Prof. Dr. Renato Herman Sundfeld
1. Natureza da pesquisa: o (a) sr.(a) _____ está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa que tem como finalidade avaliar a microdureza e rugosidade superficial do esmalte dental após microabrasão e clareamento dental.
2. Participantes da pesquisa: Participarão da referida pesquisa, 10 voluntários jovens, estudantes da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA, que preencham os critérios de inclusão e exclusão requeridos para a pesquisa.
3. Envolvimento na pesquisa: ao participar deste estudo o(a) sr.(a) _____ permitirá que o (a) pesquisador (a) <u>Laura Molinar Franco</u>, (1) solicite o comparecimento no Departamento de Odontologia Restauradora nas datas pré-agendadas, (2) instale um dispositivo palatino que será utilizado no desenvolvimento da pesquisa. O(a) sr.(a) _____ tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o(a) sr.(a) _____. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.
4. Sobre as entrevistas: Não há entrevistas envolvidas nesta pesquisa.
5. Riscos e desconforto: A participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas, pois o mínimo desconforto que pode surgir é em relação à adaptação do dispositivo na cavidade oral do voluntário. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.
6. Confidencialidade: todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o (a) pesquisador (a) <u>Laura Molinar Franco</u> e seu (sua) orientador (a) <u>Prof. Drº Renato Herman Sundfeld</u> (e/ou equipe de pesquisa) terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.
7. Benefícios: ao participar desta pesquisa o (a) sr.(a) _____ não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo resulte em informações importantes para que se possa estabelecer um período mínimo para a realização dos procedimentos de microabrasão e

clareamento, sem que esse prejudique a saúde oral do paciente e também sem que ele precise esperar tempo desnecessário para sua realização, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa trazer benefícios diretos para aplicação clínica nos pacientes, onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.

8. Pagamento: o (a) sr.(a) _____ não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do Participante da Pesquisa

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador

Assinatura do Orientador

Pesquisador: Laura Molinar Franco – (18) 8110-0440

Orientador: Prof. Drº Renato Herman Sundfeld – (18) 3636-3346

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa: Profa. Dra. Ana Cláudia de Melo Stevanato Nakamune

Vice-Coordenador: Prof. Wilson Galhego Garcia

Telefone do Comitê: (18) 3636-3234

E-mail cep@foa.unesp.br

Anexo 3 - Carta de orientação aos voluntários

Orientação aos Voluntários

- Dormir com o aparelho a noite que antecede o período experimental, após a última higiene bucal;
- Utilizar o dispositivo continuamente (24hs/dia), exceto durante as refeições (3 refeições diárias, totalizando 3 horas);
- Durante a alimentação o dispositivo deverá permanecer no estojo plástico;
- Não ingerir bebidas fora do horário da alimentação, exceto água, (retirar o dispositivo);
- Não ingerir medicamento durante o período experimental;
- A higiene bucal, inclusive das amostras presentes no aparelho, deverá ser realizada normalmente após as refeições, (café da manhã, almoço e jantar), utilizando da escova e dentifrício fornecido pelo pesquisador;
- Retirar o dispositivo na manhã seguinte após o fim do experimento;
- O voluntário deverá retornar a clínica nos dias marcados, nos horários agendados previamente;
- Ao final do experimento, o aparelho deverá ser guardado no estojo plástico e recoberto com gaze úmida em água, e devolvê-lo o mais rápido possível ao pesquisador;
- Qualquer dúvida entrar em contato com o pesquisador.

ANEXO 3 – Resultados

Microdureza

GRUPO I

	T0	T1	T2	T3	T4
Esp 1	366,6	353,8	341,4	332,8	333,6
Esp 2	346,6	358	317,8	323	300,6
Esp 3	334,4	275,6	285,4	328,4	325,8
Esp 4	359,2	300,2	354,2	389,4	346,4
Esp 5	352	369,6	328,6	318	377
Esp 6	342,8	243,8	298,6	234,8	274
Esp 7	354,6	366	377,6	357,8	344,8
Esp 8	331,4	390,4	387	361	377
Esp 9	376,2	336,6	387,8	375,2	357,8
Esp 10	327,4	312,6	328	313,4	357,4

GRUPO II

	T0	T1	T2	T3	T4
Esp 1	337,2	185,4	236,6	341,2	382,2
Esp 2	345,4	263,4	276,6	252,4	183
Esp 3	346,4	253,6	299,2	368,6	455
Esp 4	353,4	300	274,6	313,2	328
Esp 5	374,2	331	294,4	380,6	360,4
Esp 6	363,8	313,8	322	345,4	339,6
Esp 7	339,8	327,2	285,2	266,2	344,6
Esp 8	348,4	297,8	315,2	275,4	338,6
Esp 9	347,8	326	352	363,4	399
Esp 10	352,4	328	355	371,8	399,4

GRUPO III

	T0	T1	T2	T3	T4
Esp 1	361,8	300,6	331	377	386,8
Esp 2	365,2	344,2	300,8	261	333
Esp 3	348,4	293	264,8	358,4	370
Esp 4	372,2	347	232,6	366,2	350,8
Esp 5	362	386,8	264,2	371,2	369,6
Esp 6	330,2	306,4	293,8	380,6	374,6
Esp 7	358,8	369,8	366,8	399,6	390,6
Esp 8	332,8	285,6	310,4	323	331,6
Esp 9	342,8	242,4	338,8	351,8	353,6
Esp 10	364,6	315,8	340	397,6	384,4

GRUPO IV

	T0	T1	T2	T3	T4
Esp 1	333,6	307,6	210,4	357	404,4
Esp 2	340,6	395,6	413,6	233,8	254,2
Esp 3	327,4	277,4	272,4	359,8	343,4
Esp 4	337,6	265,6	230,2	348	358
Esp 5	362,8	199,8	246,8	360,6	399,6
Esp 6	338,2	282,2	252,6	355,2	367,8
Esp 7	376,6	363	378,2	325,2	365,2
Esp 8	371	367	319,4	366	336
Esp 9	349	268,8	316,8	337	375,8
Esp 10	357,2	331,8	357,4	345,6	372,4

Rugosidade

GRUPO I

	T0	T1	T2	T3	T4
Esp 1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Esp 2	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02
Esp 3	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02
Esp 4	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Esp 5	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02
Esp 6	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02
Esp 7	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02
Esp 8	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Esp 9	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Esp 10	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03

GRUPO II

	T0	T1	T2	T3	T4
Esp 1	0,02	0,18	0,19	0,23	0,19
Esp 2	0,01	0,18	0,2	0,18	0,19
Esp 3	0,01	0,12	0,12	0,12	0,11
Esp 4	0,05	0,13	0,16	0,14	0,15
Esp 5	0,02	0,16	0,14	0,13	0,14
Esp 6	0,02	0,1	0,1	0,12	0,11
Esp 7	0,02	0,15	0,19	0,17	0,16
Esp 8	0,02	0,09	0,11	0,11	0,09
Esp 9	0,01	0,08	0,09	0,1	0,09
Esp 10	0,03	0,15	0,15	0,15	0,15

GRUPO III

	T0	T1	T2	T3	T4
Esp 1	0,02	0,19	0,15	0,17	0,16
Esp 2	0,01	0,12	0,11	0,11	0,09
Esp 3	0,02	0,17	0,17	0,16	0,15
Esp 4	0,02	0,1	0,15	0,16	0,18
Esp 5	0,02	0,14	0,11	0,1	0,09
Esp 6	0,01	0,14	0,14	0,15	0,15
Esp 7	0,02	0,1	0,11	0,09	0,1
Esp 8	0,02	0,14	0,11	0,11	0,1
Esp 9	0,01	0,18	0,18	0,14	0,14
Esp 10	0,04	0,11	0,11	0,1	0,1

GRUPO IV

	T0	T1	T2	T3	T4
Esp 1	0,02	0,11	0,11	0,13	0,12
Esp 2	0,01	0,1	0,1	0,1	0,1
Esp 3	0,02	0,15	0,16	0,14	0,15
Esp 4	0,04	0,25	0,18	0,16	0,14
Esp 5	0,05	0,14	0,24	0,21	0,16
Esp 6	0,04	0,17	0,15	0,11	0,13
Esp 7	0,03	0,09	0,1	0,11	0,12
Esp 8	0,03	0,13	0,14	0,1	0,1
Esp 9	0,02	0,11	0,1	0,1	0,1
Esp 10	0,04	0,18	0,15	0,16	0,16

ANEXO 4 – Normas de publicação do Periódico Clinical Oral Investigations.

Clinical Oral Investigations

Instructions for Authors

TYPES OF PAPERS

Papers may be submitted for the following sections:

Original articles Invited reviews Short communications Letters to the editor

It is the general policy of this journal not to accept case reports and pilot studies.

EDITORIAL PROCEDURE

If you have any questions please contact:

Prof. Dr. G. Schmalz University of Regensburg Department of Conservative Dentistry and Periodontology Franz-Josef-Strauß-Allee 11 93053 Regensburg Germany

e-mail: gottfried.schmalz@klinik.uni-regensburg.de Tel.: +49 941 9446024, Fax: +49 941 9446025

MANUSCRIPT SUBMISSION

Instructions for Authors

5/2/2014 Clinical Oral Investigations – incl. option to publish open access

http://www.springer.com/medicine/dentistry/journal/784?print_view=true&detailsPage=pltc_i_1060698 2/12

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Further Useful Information please follow the link below

Further Useful Information

The Springer Author Academy is a set of comprehensive online training pages mainly geared towards first-time authors. At this point, more than 50 pages offer advice to authors on how to write and publish a journal article.

Springer Author Academy

TITLE PAGE

The title page should include:

The name(s) of the author(s)

A concise and informative title

The affiliation(s) and address(es) of the author(s) The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide a structured abstract of 150 to 250 words which should be divided into the following sections:

Objectives (stating the main purposes and research question)

Materials and Methods

Results

Conclusions

Clinical Relevance

These headings must appear in the abstract.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

TEXT

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text. Use italics for emphasis. Use the automatic page numbering function to number the pages. Do not use field functions. Use tab stops or other commands for indents, not the space bar. Use the table function, not spreadsheets, to make tables. Use the equation editor or MathType for equations. Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

LaTeX macro package (zip, 182 kB)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values

and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

REFERENCES

Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples: 1. Negotiation research spans many disciplines [3]. 2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5]. 3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

The entries in the list should be numbered consecutively.

Journal article Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086

Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

EndNote style (zip, 2 kB)

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibtex file spbasic.bst which is included in Springer's LaTeX macro package.

TABLES

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to

the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically. Indicate what graphics program was used to create the artwork. For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable. Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files. Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art

Definition: Black and white graphic with no shading. Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size. All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide. Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi. Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc. If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves. Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc. Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

Color art is free of charge for online publication. If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent. If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions. Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts). Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt). Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label. Avoid effects such as shading, outline letters, etc. Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals. Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.). If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file. Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type. No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption. Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs. Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

When preparing your figures, size figures to fit in the column width. For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm. For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund

any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware) Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements) Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

Supply all supplementary material in standard file formats. Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author. To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability. A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended. If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables. Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., “... as shown in the animation (Online Resource 3)”, “... additional data are given in Online Resource 4”. Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

INTEGRITY OF RESEARCH AND REPORTING

Ethical standards

Manuscripts submitted for publication must contain a statement to the effect that all human and animal studies have been approved by the appropriate ethics committee and have

therefore been performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

It should also be stated clearly in the text that all persons gave their informed consent prior to their inclusion in the study. Details that might disclose the identity of the subjects under study should be omitted.

These statements should be added in a separate section before the reference list. If these statements are not applicable, authors should state: The manuscript does not contain clinical studies or patient data.

The editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned requirements. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned requirements

Conflict of interest

Authors must indicate whether or not they have a financial relationship with the organization that sponsored the research. They should also state that they have full control of all primary data and that they agree to allow the journal to review their data if requested. Therefore the manuscript must be accompanied by the “Conflict of Interest Disclosure Form”. To download this form, please follow the hyperlink on the right.

The manuscript must also be accompanied by the “Authorship & Disclosure Form”. To download this form, please follow the hyperlink on the right.

Compliance to ethical requirements

Springer’s statements on human and animal rights, conflict of interest and informed consent can be found at:

Statement on Human and Animal Rights Conflict of Interest Informed Consent

DOES SPRINGER PROVIDE ENGLISH LANGUAGE SUPPORT?

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer

review process. The following editing service provides language editing for scientific articles in all areas Springer publishes in. Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication. Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

For Authors from China

文章在投稿前进行专业的语言润色将对作者的投稿进程有所帮助。作者可自愿选择使用Springer推荐的编辑

服务，使用与否并不作为判断文章是否被录用的依据。提高文章的语言质量将有助于审稿人理解文章的

内容，通过对学术内容的判断来决定文章的取舍，而不会因为语言问题导致直接退稿。

作者需自行联系 Springer推荐的编辑服务公司，协商编辑事宜。

理文编辑

For Authors from Japan

ジャーナルに論文を投稿する前に、ネイティブ・スピーカーによる英文校閲を希望されている方には、Edanz社

をご紹介します。サービス内容、料金および申込方法など、日本語による詳しい説明はエダンズグループ ジャパン株式会社の下記サイトをご覧ください。

エダンズ グループ ジャパン

For Authors from Korea

영어 논문 투고에 앞서 원어민에게 영문 교정을 받고자 하시는 분들께 Edanz 회사를 소개해 드립니다. 서비스 내용, 가격 및 신청 방법 등에 대한 자세한 사항은 저희 Edanz Editing Global 웹사이트를 참조해 주시면 감사하겠습니다.

Edanz Editing Global

AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints. Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

Springer Open Choice

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws. Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

© Springer faz parte do Springer Science+Business Media

Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.