

PRISCILA TONINATTO ALVES DE TOLEDO

**Efeito de dentifrícios com reduzida concentração de fluoreto contendo
trimetafosfato de sódio e polióis na erosão inicial do esmalte**

ARAÇATUBA

2020

PRISCILA TONINATTO ALVES DE TOLEDO

**Efeito de dentifrícios com reduzida concentração de fluoreto contendo
trimetafosfato de sódio e polióis na erosão inicial do esmalte**

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

Orientadora: Prof.^a Associada Denise Pedrini

Coorientador: Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem

ARAÇATUBA

2020

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

T649e

Toledo, Priscila Toninatto Alves de.

Efeito de dentifrícios com reduzida concentração de fluoreto contendo trimetafosfato de sódio e polióis na erosão inicial do esmalte / Priscila Toninatto Alves de Toledo. - Araçatuba, 2020
53 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Orientadora: Profa. Denise Pedrini Ostini

Coorientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem

1. Esmalte dentário 2. Fluoretos 3. Fosfatos 4. Xilitol
5. Erosão dentária 6. Dentifrícios I. T.

Black D27

CDD 617.645

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

DADOS CURRICULARES

PRISCILA TONINATTO ALVES DE TOLEDO

Nascimento 30.11.1993 - Palmeira D'Oeste - SP, Brasil

Filiação Luiz Carlos Alves de Toledo e Marilza Aparecida Toninatto

2013/2017 Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP

2018/2019 Pós-Graduação em Ciência Odontológica, área de concentração Saúde Bucal da Criança, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP

Associações CROSP - Conselho Regional de Odontologia do Estado de São Paulo
SBPqO - Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho,

Aos meus pais **Marilza e Luiz Carlos**, e ao meu irmão **Guilherme**

Obrigado pelo apoio, carinho, amor e dedicação para concretização do meu sonho.

Dedico este trabalho principalmente para minha mãe, que me deixou fisicamente cedo, porém em pensamento, está comigo todos os dias. Vivo e luto por vocês e para vocês.

Amo vocês incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus

Por ser meu guia, meu alicerce, por me conceder saúde e sabedoria para seguir em frente, protegendo meu caminho e abençoando minhas conquistas.

Ao meu irmão Guilherme,

Por ser meu companheiro em toda minha jornada até aqui, andando de mãos dadas, sendo um só. Amo você!

A minha vó Maria,

Obrigada pelas orações e apoio. A senhora é minha segunda mãe e é o meu exemplo de garra e superação. Nunca esquecerei tudo o que a senhora fez por mim. Eu te amo eternamente.

A toda família,

Obrigada pela força, pelo apoio e pelos momentos de descontração. Vocês são tudo para mim, obrigada por fazerem parte da minha vida.

“Deus é o dono de tudo. Devo a Ele a oportunidade que tive de chegar aonde cheguei. Muitas pessoas têm essa capacidade, mas não têm essa oportunidade. Ele a deu para mim, não sei por quê. Sei que não posso desperdiçá-la”.

Ayrton Senna

A minha querida Orientadora,

Profa. Denise Pedrini,

Agradeço a Deus todos os dias por ter colocado a senhora em minha vida como orientadora com seu instinto maternal. Obrigada por todo apoio, pela paciência, compreensão, carinho e a confiança que depositou em mim. Agradeço por todo ensinamento compartilhado nesses anos. Sem você, nada seria possível. Desejo que Deus e nossa senhora a proteja e guarde. Muito obrigada por tudo professora!

Ao meu Coorientador,

Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem,

Por toda a colaboração durante a execução do trabalho. A sua contribuição foi peça-chave para o desenvolvimento e concretização da pesquisa. Muito obrigada! Você tem um lugar especial na minha vida.

Aos docentes da Disciplina de Odontopediatria,

Ao Professor Robson Frederico Cunha, pela oportunidade de estagiar na Bebê-Clínica, obrigada por transmitir toda sua experiência e conhecimento, ao Professor Juliano Pelim Pessan e à Professora Sandra Maria Herondina Coelho Ávila de Aguiar, por todo o conhecimento compartilhado e à Professora Cristiane Duque, por estar sempre pronta a ajudar.

Aos meus amigos,

Mayra, Nayara, Laís, Heitor, Renan, Leonardo, Ana Paula,

Obrigada por todos os momentos que passamos juntos, pela amizade que construímos, pelo conhecimento que me passaram. Levarei a amizade de vocês para sempre.

Priscila Toninatto Alves de Toledo

À Francienne e ao Igor,

Obrigada por cada momento que passamos juntos, pelo apoio incondicional de vocês dois. Eu amo muito vocês e levarei nossa amizade para sempre. A presença de vocês em minha vida foi/é essencial para superar todos os obstáculos que a vida colocou em meu caminho.

Aos meus amigos da Pós-graduação,

Aos amigos do Departamento, muito obrigada por toda forma de ajuda, pela convivência alegre e por terem me recebido com tanto carinho e atenção, vocês tornaram esta jornada mais agradável.

Aos meus amigos de infância,

Gabriel, Amanda, Marilise, Vinicius, Bianca,

Muito obrigada por todo apoio mesmo estando longe um do outro. Nossa amizade é a mesma independente da distância. Amo muito vocês!

Aos funcionários do Departamento de Odontologia Infantil e Social,

Luizinho, Mário e Ricardo, por estarem sempre dispostos a ajudar.

À seção de Pós-Graduação,

Cristiane, Lilian e Valéria, muito obrigada por toda atenção e paciência.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba,

Nas pessoas dos professores: Prof. Titular Glauco Issamu Miyahara, digníssimo Diretor e Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem, digníssimo Vice-Diretor.

Priscila Toninatto Alves de Toledo

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Odontológica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP,

Na pessoa do Coordenador Prof. Assoc. Luciano Tavares Angelo Cintra.

Ao Frigorífico FRIBOI,

Pela permissão da coleta dos dentes bovinos.

**À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)
- Código de Financiamento 001 (Bolsa Mestrado) e PROCAD 2013 Proc.
88881.068437/2014-01, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
Tecnológico (CNPq) (Bolsa Mestrado) e Fundação de Amparo à Pesquisa do
Estado de São Paulo (FAPESP) (Bolsa de Iniciação Científica),**

Pela concessão de recursos a mim e à aluna de iniciação científica Amanda Eliane Sakamoto.

Priscila Toninatto Alves de Toledo

EPIGRAFE

“A felicidade só é real quando compartilhada”

Henry Thoreau

TOLEDO, P.T.A. **Efeito de dentifrícios com reduzida concentração de fluoreto contendo trimetafosfato de sódio e polióis na erosão inicial do esmalte.** 2020. 53f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

RESUMO

Este estudo *in vitro* avaliou o efeito de dentifrícios contendo fluoreto (F), trimetafosfato de sódio (TMP) e/ou xilitol e eritritol (XE) em inibir ou reparar lesão erosiva inicial do esmalte. Blocos de esmalte bovino (n=120) foram selecionados por dureza de superfície (SH) inicial e divididos em 5 grupos compostos por dentifrícios (24 blocos/grupo): Placebo (sem F, TMP e XE); 1100 ppm F; 16% xilitol + 4% eritritol (XE); 200 ppm F + 0,2% TMP (200 ppm F/TMP); e 200 ppm F + 0,2% TMP + 16% xilitol + 4% eritritol (200 ppm F/TMP/XE). Para a análise do efeito protetor, blocos hígidos (n=60) foram imersos 1x/2 minutos em suspensão de dentifrícios/saliva humana. Em seguida, os blocos foram submetidos a 4 desafios erosivos com ácido cítrico (0,75%, pH 3,5) de 1 minuto cada, sob agitação. A seguir, a SH foi determinada pós-tratamento (t) e após o 1º, 2º, 3º e 4º desafios ácidos erosivos (d) para o cálculo da porcentagem de variação da SH (%SH). Para a análise do efeito reparador, esmalte previamente erodido (n=60) foi tratado e submetido aos mesmos desafios erosivos descritos anteriormente. A %SH de recuperação (R) e %SHt foram calculadas, bem como, a diferença entre a %SHR e %SHd obtendo-se o $\Delta\%SH$ para cada desafio. Experimento adicional foi realizado para análise da deposição de precipitados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em esmalte hígido e erodido. Os dados foram submetidos à análise de variância de medidas repetidas a dois critérios, seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p<0,05$). Os resultados mostraram que o maior efeito protetor e reparador foi produzido pelo dentifrício 200 ppm F/TMP/XE quando comparado aos demais grupos ($p<0,001$). Os grupos 1100 ppm F e 200 ppm F/TMP apresentaram similar efeito protetor para o 1º, 2º e 3º desafios ($p>0,05$), e menor quando comparados ao XE ($p<0,001$). O efeito protetor e reparador foi: $XE>200 \text{ ppm F/TMP}>1100 \text{ ppm F}>\text{Placebo}$ ($p<0,001$). Na MEV observou-se deposição de precipitado no esmalte para todos os grupos, formando uma camada mais espessa e homogênea nos grupos contendo XE e/ou TMP. Concluiu-se que dentifrício contendo 200 ppm F, TMP e polióis apresenta efeito

protetor e reparador superior quando comparado a um dentifrício 1100 ppm F em lesões erosivas iniciais no esmalte.

Palavras Chave: Esmalte dentário. Fluoretos. Fosfatos. Xilitol. Erosão dentária. Dentifrícios.

TOLEDO, P.T.A. **Effect of low-fluoride toothpaste containing sodium trimetaphosphate and polyols on initial enamel erosion**. 2020. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

ABSTRACT

This *in vitro* study evaluated the effect of toothpaste containing fluoride (F), sodium trimetaphosphate (TMP) and/or xylitol and erythritol (XE) in inhibit or repair initial enamel erosion lesions. Bovine enamel blocks (n=120) were selected by initial surface hardness (SH) and divided into 5 groups of toothpastes (n=24 blocks/group): Placebo (no F, TMP or XE); 1100 ppm F; 16% xylitol + 4% erythritol (XE); 200 ppm F + 0.2% TMP (200 ppm F/TMP); and 200 ppm F + 0.2% TMP + 16% xylitol + 4% erythritol (200 ppm F/TMP/XE). For the analysis of the protective effect, sound blocks (n=60) were immersed in toothpaste slurry in human saliva once for 2 minutes. Hereafter, the blocks were submitted to 4 erosive challenges in citric acid (0.75%, pH 3.5) by 1 minute, under stirring. Then, the SH was determined after treatment (t) and after the 1st, 2nd, 3rd and 4th erosive acid challenges (d) to calculate the percentage of change of the SH (%SH). For the analysis of the repair effect, eroded enamel (n=60) were treated and submitted to erosive challenges as describe previously. The recovery (R) of %SH and %SHt were calculated, as well as the difference between the %SHR and %SHd obtaining the $\Delta\%SH$ for each challenge. Additional experimental was performed to analysis the deposition of precipitates by Scanning Electronic Microscopy (SEM) on sound and eroded enamel. Variables were submitted to two-way repeated measures analysis of variance followed by Student-Newman-Keuls test ($p<0.05$). The results showed that the highest protective and repair effect was produced by the 200 ppm F/TMP/XE toothpaste when compared to the other groups ($p<0.001$). The 1100 ppm F and 200 ppm F/TMP groups had similar protective effect for the 1st, 2nd and 3rd challenges ($p>0.05$), and lower when compared to XE ($p<0.001$). The protective and repair effect was: XE>200 ppm F/TMP>1100 ppm F>Placebo ($p<0.001$). There were deposition of precipitates on enamel for all groups, with a thicker layer and homogeneous for XE and/or TMP groups. It was concluded that toothpaste containing 200 ppm F, TMP and polyols has superior protective and repair effect when compared to 1100 ppm F toothpaste in initial enamel erosive lesions.

Key-words: Dental enamel. Fluorides. Phosphates. Xylitol. Dental erosion. Toothpastes.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos dentifrícios de acordo com os grupos experimentais	24
Tabela 2 - Valores médios da concentração (ppm F) de fluoreto total (FT) e iônico (FI) e de pH nos dentifrícios experimentais	28
Tabela 3 - Valores médios (DP) da porcentagem de alteração da dureza de superfície (%SH) de acordo com os dentifrícios e a condição analisada em esmalte hígido (n=12)	29
Tabela 4 - Valores médios (DP) da porcentagem de alteração da dureza de superfície (%SH) do esmalte previamente erodido (%SHe), da reparação do esmalte erodido (%SHR) e da diferença entre %SHR e %SH pós-desafios ácidos (Δ %SH) de acordo com os dentifrícios e a condição analisada em esmalte previamente erodido (n=12)	31

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Ilustração da análise da dureza no experimento protetor (A) e reparador (B) após o preparo do bloco de esmalte (SHi), pós-erosão inicial (SHe), pós-tratamento (SHt) e após a realização do 1º, 2º, 3º e 4º desafios ácidos (SHd). 23
- Figura 2** - Imagens de MEV representativas de esmalte hígido tratado em diferentes grupos: (A) Placebo, (B) 1100 ppm F, (C) XE, (D) 200 ppm F/TMP e (E) 200 ppm F/TMP/XE. Asterisco preto indica esmalte hígido. Asterisco branco indica precipitado formado após tratamento. Seta indica limite entre o esmalte hígido e precipitados. 30
- Figura 3** - Imagens de MEV representativas de esmalte erodido tratado pelos diferentes dentifrícios: (A) Placebo, (B) 1100 ppm F, (C) XE, (D) 200 ppm F/TMP e (E) 200 ppm F/TMP/XE. Asterisco preto indica esmalte erodido. Asterisco branco indica precipitado formado após tratamento. Seta indica limite entre o esmalte erodido e precipitados. 32

SUMÁRIO

Abstract	18
Introdução	19
Materiais e Métodos	21
Resultados	27
Discussão	32
Referências	36
Anexos	42

Efeito de dentifrícios com reduzida concentração de fluoreto contendo trimetafosfato de sódio e polióis na erosão inicial do esmalte*

Priscila Toninatto Alves de Toledo¹, Alberto Carlos Botazzo Delbem¹, Amanda Eliane Sakamoto¹, Denise Pedrini²

¹Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Departamento de Odontologia Infantil e Social, Araçatuba, São Paulo, Brasil

²Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Araçatuba, São Paulo, Brasil

Autor Correspondente:

Profa. Assoc. Denise Pedrini

Disciplina de Clínica Integrada, Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba, UNESP

Rua José Bonifácio 1193, CEP: 16015-050, Araçatuba, SP, Brasil.

Phone: +55-18-36363201 Fax: +55-18-36363332. E-mail: denise.pedrini@unesp.br

Agradecimentos

Agradecemos às bolsas de mestrado recebidas pelo primeiro autor pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001; auxílio à pesquisa CAPES PROCAD 2013 - Proc. 88881.068437/2014-01 sob a coordenação do segundo autor; Iniciação Científica - FAPESP Proc. 2018/21082-9 recebida pelo terceiro autor.

***De acordo com as instruções aos autores do periódico Clinical Oral Investigations**

https://www.springer.com/journal/784/submission-guidelines?detailsPage=pltc_i_1060698

Abstract

Objectives To evaluate toothpaste containing fluoride (F), sodium trimetaphosphate (TMP) and/or xylitol and erythritol (XE) in inhibit or repair initial enamel erosion lesion.

Materials and methods Bovine enamel blocks (n=120) were selected by surface hardness (SH) and divided into 5 experimental groups (n=24 blocks/group): Placebo (no F, TMP, XE); 1100 ppm F; 16% xylitol + 4% erythritol (XE); 200 ppm F + 0.2% TMP (200 ppm F/TMP); and 200 ppm F + 0.2% TMP + 16% xylitol + 4% erythritol (200 ppm F/TMP/XE). Sound and eroded blocks were immersed in toothpaste slurry in human saliva once for 2 minutes. The blocks were submitted to 4 erosive challenges in citric acid (0.75%, pH 3.5) by 1 minute, under stirring. Then, the SH was determined after treatment (t) and after erosive challenges and precipitates were analyzed by Scanning Electronic Microscopy (SEM). Variables were submitted to two-way repeated measures analysis of variance followed by Student-Newman-Keuls test ($p < 0.05$).

Results The highest protective and repair effect was produced by the 200 ppm F/TMP/XE toothpaste when compared to the other groups ($p < 0.001$). The protective and repair effect was: XE > 200 ppm F/TMP > 1100 ppm F > Placebo ($p < 0.001$). Precipitates were present in all groups, but with a thicker layer for XE and/or TMP groups.

Conclusions Toothpaste containing 200 ppm F, TMP and polyols has superior protective and repair effect in initial enamel erosive lesions.

Clinical relevance The use of this toothpaste would have a major impact on initial erosive lesions or immediately upon ingestion of acidic beverages during meals.

Keywords Dental enamel • Fluorides • Phosphates • Xylitol • Dental erosion • Toothpastes

Introdução

A erosão dentária é definida como a perda de tecido dentário duro por um processo químico, basicamente sem envolvimento de bactérias [1, 2] causado por fontes de ácidos exógenos (bebidas e alimentos ácidos, drogas) e endógenos (suco gástrico, devido a vômito ou refluxo) [3]. Atualmente é considerada um problema para saúde bucal, com prevalência na dentição decídua varia entre 30% e 50% e na dentição permanente (crianças/adolescentes e adultos) entre 20% e 45% [3]. Em acréscimo, etapas avançadas desta condição podem prejudicar a estética e a função, afetando a qualidade de vida do paciente [4]. Portanto, é necessário estabelecer abordagens preventivas e terapêuticas efetivas focadas na etiopatogenicidade da lesão. As medidas preventivas devem começar precocemente envolvendo orientações dietéticas, para reduzir a frequência e a severidade dos desafios erosivos [1, 2].

A introdução de dentifrícios contendo fluoreto (F) reduziu significativamente a incidência de cárie dentária [5, 6]. Entretanto, o efeito dos dentifrícios fluoretados (1100 ppm F) mostra-se limitado contra a erosão dentária [7, 8], pois o pH de dissolução do fluoreto de cálcio e/ou qualquer precipitado formado a partir do F é excedido durante o desafio ácido [9–11]. Além disso, os dentifrícios contendo 1100 ppm F podem levar ao desenvolvimento da fluorose dentária, principalmente quando utilizado por crianças nos primeiros três anos de vida [6]. A fim de reduzir o risco da fluorose dentária em crianças, formulações de dentifrícios com concentração reduzida de F é uma alternativa para a cárie dentária [6]. Porém, o desafio é reduzir a concentração de F nas formulações dentifrícias e aumentar o efeito do produto contra desmineralização em pH inferior a 4,0 em um meio não saturado em relação à hidroxiapatita; o que caracteriza basicamente o desafio erosivo [9].

Uma maneira de melhorar a eficácia dos dentifrícios com baixa concentração de F contra a erosão dentária é a adição de fosfatos inorgânicos às formulações [10–13]. Dentre estes, a adição do trimetafosfato de sódio (TMP) a dentifrícios com reduzida concentração de F (500 ppm F ou 250 ppm F) promoveu um efeito superior contra a erosão do esmalte, seguido ou não da abrasão por escovação, quando comparado a dentifrícios com 1100 ppm F [12] ou dentifrício contendo 1425 ppm F e 5% de nitrato de potássio [13], respectivamente. De acordo com esses estudos, o efeito é baseado na capacidade do TMP em bloquear a difusão dos ácidos para o

interior do esmalte [10, 11, 13]. Porém, para se potencializar um efeito anticárie e antierosivo, é necessária uma proporção molar F/TMP adequada.

Para melhorar o efeito antierosivo dos dentifrícios com concentração reduzida de F associado ao TMP, a adição de agentes que apresentem afinidade pelo esmalte é preferível. Um exemplo disso são os açúcares álcoois (poliálcoois), como o xilitol e o eritritol, que apresentam a habilidade de penetrar no esmalte desmineralizado e se ligar ao cálcio, reduzindo a perda mineral pela erosão [14]. Os poliálcoois estão presentes em plantas, frutas e vegetais, e apresentam efeito comprovado na redução do metabolismo e aderência bacteriana [15, 16]. Porém, associações dentifrícias contendo 1030 ppm F e 10% xilitol não diferiram das formulações contendo somente F contra a erosão dentária [14]. Além disso, dentifrício contendo somente 10% xilitol não apresentou efeito contra a erosão do esmalte. Apesar de poucos estudos com dentifrícios contendo açúcares álcoois e erosão dentária, estudos utilizando vernizes mostraram menor desgaste erosivo quando o xilitol foi utilizado na concentração de 20% [17–20].

Estudo de cárie dentária *in situ* [21] mostrou que uma formulação de dentifrício contendo 200 ppm F, 0,2% TMP e 20% de açúcares álcoois (16% xilitol e 4% eritritol: XE) ou somente 20% de açúcares álcoois resultou em uma diminuição de 32% e 19%, respectivamente, na porcentagem de perda da dureza de superfície em comparação ao dentifrício com 1100 ppm F. Além disso, a capacidade de reduzir o corpo da lesão foi de aproximadamente 90% maior com 200 ppm F/XE/TMP quando comparado ao dentifrício contendo 1100 ppm F. Entretanto, esses dentifrícios foram testados em modelos que simulam o processo da cárie dentária em meios supersaturados em relação à hidroxiapatita. Assim, a capacidade do TMP em reduzir a difusão de ácido para o interior do esmalte [13] e a habilidade do xilitol em reter cálcio na superfície [14, 22] deve ser testada em um processo de erosão dentária que não é saturado em relação à hidroxiapatita [9]. No processo erosivo, é importante que o agente apresente capacidade de adsorver-se ao substrato dentário e ter efeito por mais tempo após sua aplicação.

Considerando a escassez de trabalhos avaliando o efeito da associação de F, TMP e polióis no processo erosivo, o objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar o efeito de dentifrício de baixa concentração de F (200 ppm F) associado ao TMP (0,2%), XE (16% xilitol e 4% eritritol) em inibir ou reparar lesões erosivas iniciais do esmalte. A

hipótese nula do estudo foi que o dentifrício contendo a associação de F, TMP e XE apresenta efeito similar a um dentifrício 1100 ppm F contra erosão inicial do esmalte.

Materiais e Métodos

Preparo dos blocos de esmalte

Blocos de esmalte (n=120; 4 mm x 4 mm) foram obtidos de incisivos bovinos a partir da porção mais plana da vestibular das coroas, previamente desinfetados com auxílio de um micro-ondas, 650 w, por 3 minutos (Micro-ondas Electrolux MEV41, Curitiba, PR, Brasil) [23]. Após a obtenção dos blocos de esmalte, a dentina foi ajustada para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina (espessura ± 2 mm). Os blocos foram fixados em discos de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 8 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (New Wax, Technew, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), com a superfície dentinária voltada para cima, sendo este conjunto levado à politriz BETA – grinder polisher (Buehler, Lake Bluff, IL, Estados Unidos da América). Para o desgaste, foram utilizadas lixas de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler), peso de 4 lbs, durante 20 segundos sob baixa rotação (150 rpm) e refrigeração a água.

Em seguida, os blocos foram removidos e fixados novamente com a superfície do esmalte voltada para cima e polida com as lixas de granulação 600, 800 e 1200, 4 lbs, 30 segundos cada, sob refrigeração a água. Entre cada polimento, os blocos foram submetidos ao ultrassom (Elma GmbH & Co KG, Elmasonic P, Alemanha), em água deionizada durante 20 minutos. Na sequência, o esmalte foi polido com papel feltro para polimento (Polishing Cloth Buehler 40-7618) e suspensão de diamante (METADI Diamond Suspension 1 micron Blue Color Polish Spray, Water Base 40-6530), 4 lbs, durante 1 minuto. A seguir, os blocos foram lavados com jato de água deionizada durante 30 segundos e submetidos a lavagem em ultrassom (Elma GmbH & Co KG, Elmasonic P, Alemanha), durante 20 minutos, imersos em solução de limpeza (ULTRAMED Sonic cleaning Solution, Buehler) diluída na proporção 20:1 em água destilada (Anexo A). Durante todos os procedimentos e entre um passo e outro, os blocos foram mantidos em ambiente umedecido com formol 2% pH 7,0 [24]. Foram utilizados blocos com superfícies de esmalte planas, sem trincas, riscos ou hipoplasias.

A dureza de superfície inicial (SHi) foi determinada da seguinte maneira: uma impressão de referência foi realizada a uma distância de 1000 μm (Knoop, 500 g, 10 segundos, Shimadzu HMV-2000, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) (Anexo B) da região central da superfície dos blocos, para facilitar a localização da impressão das medidas de SHi. A uma distância de 200 μm do vértice direito da maior impressão (Figura 1), foram realizadas cinco impressões (SHi), separadas por uma distância de 100 μm (Knoop, 25 g, 10 segundos, Shimadzu HMV-2000) [25]. Os blocos selecionados foram os que apresentaram SHi entre 349,0 e 373,0 KHN.

(Microsoft Corporation, Estados Unidos da América). Os blocos de esmalte hígidos (n=60) e previamente desmineralizados (n=60) foram submetidos a um único tratamento com os dentifrícios experimentais (12 blocos/grupo): Placebo (sem F, TMP, XE); 1100 ppm F; 16% xilitol + 4% eritritol (XE); 200 ppm F + 0,2% TMP (200 ppm F/TMP); e 200 ppm F + 0,2% TMP + 16% xilitol + 4% eritritol (200 ppm F/TMP/XE). O tamanho da amostra de 12 blocos/grupo foi calculado baseado em estudo piloto, considerando como resultado primário a dureza de superfície (KHN), a diferença média entre grupos e desvio-padrão de 12 KHN e 6 KHN, respectivamente, erro α de 0,05 e um poder (1- β) de 0,85, utilizando o programa estatístico SigmaPlot versão 12.0 (Systat Software Incorporation, San Jose, CA, Estados Unidos da América).

Formulação dos dentifrícios e determinação de fluoreto dos dentifrícios

Os dentifrícios foram manufaturados com a mesma composição básica pela empresa Xlear Incorporation® (American Fork, UT, Estados Unidos da América) (Tabela 1), exceto os agentes ativos.

Tabela 1 - Composição dos dentifrícios de acordo com os grupos experimentais

Ingredientes	Dentifrícios (g/100g)				
	Placebo	1100 ppm F	XE	200 ppm F/TMP	200 ppm F/TMP/XE
Água deionizada	54,0	53,9568	36,4	53,9558	36,2558
Glicerina	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Fluoreto de sódio	-	0,2432	-	0,0442	0,0442
Trimetafosfato de sódio	-	-	-	0,2	0,2
Benzoato de sódio	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Estévia 90%	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Carboximetilcelulose	0,8	0,7	0,3	0,7	0,2
Goma Xantana	0,4	0,3	0,5	0,3	0,5
Zeodent® 124	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Zeodent® 165	16,0	16,0	14,0	16,0	14,0
Xilitol	-	-	16,0	-	16,0
Eritritol	-	-	4,0	-	4,0
Dioxido de titânio	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Lauril Glicosídeo	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Cocoil metil taurato de sódio	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Flavorizante (Tutti Frutti)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Para determinar as concentrações de F total (FT) e iônico (FI) na quantidade adicionada, utilizou-se eletrodo específico Orion 9409 BN (Orion Research Inc., Beverly, MA, Estados Unidos da América) e microeletrodo de referência (Analyser Indústria e Comércio, São Paulo, SP, Brasil) acoplados ao analisador de íons Orion 720 A (Orion Research Inc., Beverly, MA, Estados Unidos da América), previamente calibrado com cinco padrões. Foram pesados 100-110 mg de dentifrício em tubos de polipropileno aos quais foi adicionada água deionizada até o volume final de 10 mL. Após homogeneização, para a dosagem do FT, foi pipetado 0,25 mL da suspensão em tubo de ensaio de polipropileno ao qual foi acrescentado 0,25 mL de HCl 2 mol/L. Esta solução permaneceu sob agitação durante 1h a 45°C, após a qual foi adicionado 0,5 mL de NaOH 1 mol/L e 1,0 mL de TISAB II (“tampão ajustador de força iônica”). Para a dosagem de FI, a suspensão de dentifrício foi submetida à centrifugação (Hanil - Combi - 514 R, Incheon, Coréia do Sul) a 1.000 ×g durante 20 minutos. Pipetou-se 0,25 mL do sobrenadante e acrescentou-se 0,25 mL de HCl 2 mol/L, 0,5 mL de NaOH mol/L e 1,0 mL de TISAB II [26] (Anexo C).

O pH de cada dentifrício foi determinado na suspensão formada com água deionizada na proporção 1:3 (peso:peso). As análises foram realizadas em triplicatas, sob agitação constante, utilizando eletrodo de pH (2A09E, Analyser, São Paulo, Brazil) previamente calibrado com padrões de pH 7,0 e 4,0 [12].

Coleta da saliva humana

Saliva humana foi coletada de 6 voluntários saudáveis (aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, CAEE: 92746618.3.0000.5420) (Anexo D), 1 hora após o café da manhã, que apresentaram boa saúde bucal e não estiveram fazendo uso de qualquer medicamento [27]. A saliva humana foi estimulada com auxílio de parafina (Parafilm® M, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), sendo expectorada em frascos contidos em gelo [28]. A saliva coletada foi centrifugada (Hanil - Combi - 514 R, Incheon, South Korea) por 10 minutos, a 4°C, força de 2.000×g. Os sobrenadantes foram coletados, agrupados, e armazenados em frascos de 50 mL a -72°C [29] (Anexo E). Essa temperatura mantém as propriedades da saliva humana quando em temperatura ambiente.

Tratamento com os dentifrícios e análise do efeito protetor em lesões erosivas iniciais

Blocos de esmalte hígido (n=60) foram imersos (2 mL/bloco) em suspensão de dentifrícios em saliva humana (1:3 - peso:peso) apenas uma vez durante 2 minutos, e a seguir foram lavados em água deionizada por 30 segundos. O desafio erosivo consistiu em imergir individualmente cada bloco de esmalte em 4 mL de ácido cítrico (0,75%, pH 3,5; Synth, Brasil) sob agitação (100 rpm) durante 1 minuto a temperatura ambiente, seguido de lavagem com água deionizada durante 30 segundos [30, 31]. No total, foram realizados para cada bloco, quatro desafios erosivos de 1 minuto cada, após os tratamentos com os dentifrícios experimentais (Anexo F). Como os desafios ácidos foram sequenciais, os blocos permaneceram em recipiente úmido por água destilada/deionizada a temperatura ambiente durante as análises de dureza de superfície. As medidas de dureza da superfície pós-tratamento (SHt) e após o 1º, 2º, 3º e 4º desafios erosivos (SHd) foram realizadas a 400, 600, 800, 1000 e 1200 µm do vértice direito da maior impressão (Figura 1A) para calcular a porcentagem de alteração da dureza de superfície ($\%SH = [(SHt, d - SHi) / (SHi)] \times 100$) [30, 31].

Tratamento com os dentifrícios e análise do efeito reparador em lesões erosivas iniciais

Blocos de esmalte hígidos (n=60) foram imersos individualmente em 4 mL de ácido cítrico (0,75%, pH=3,5; Synth, Brasil) sob agitação (100 rpm) durante 1 minuto à temperatura ambiente, para produzir uma lesão erosiva inicial, e lavados com água deionizada durante 30 segundos [30, 31]. Após a determinação da dureza de superfície do esmalte erodido (SHe), os blocos foram tratados com suspensões de dentifrícios em saliva humana (1:3 - peso:peso) apenas uma vez durante 2 minutos (2 mL/bloco), e a seguir foram lavados em água deionizada por 30 segundos (Anexo G). A dureza de superfície foi novamente determinada (SHt) (Figura 1B) para o cálculo da porcentagem de reparação do esmalte erodido ($\%SHR = [(SHt - SHe) / (SHi - SHe)] \times 100$). A seguir, os blocos foram submetidos a quatro desafios erosivos [30, 31], como descrito anteriormente, com objetivo de verificar o efeito residual dos tratamentos. As medidas de dureza da superfície final (SHf) foram realizadas após cada desafio erosivo para calcular a %SH e, a diferença entre %SHR e %SH foi calculada obtendo $\Delta\%SH$ para cada tempo.

Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para verificar a capacidade dos dentifrícios produzirem precipitados na superfície do esmalte, foram preparados blocos de esmalte hígido e com esmalte erodido (n=3/grupo), como descrito anteriormente. Metade da superfície foi então isolada com esmalte para unhas e os blocos foram tratados com suspensões de dentifrícios em saliva humana por 2 minutos e lavados em água deionizada por 30 segundos. Depois disso, o esmalte para unhas foi removido com uma lâmina de bisturi e acetona e os blocos foram novamente lavados e secos com papel absorvente. Em seguida, os blocos de esmalte foram montados em suportes para amostras usando fita dupla face e levados para um metalizador (Quorum - Q150T E) e cobertos com uma fina camada de ouro. As imagens de cada amostra foram obtidas por MEV (Carl Zeiss, EVO ILS15, Carl Zeiss NTS LTD, Alemanha) (Anexo H), com um aumento de $10.000 \times$ a 20 kv, e foi avaliada a presença ou não de precipitado na superfície do esmalte.

Análise estatística

Grupos experimentais (Placebo, 1100 ppm F, XE, 200 ppm F/TMP e 200 ppm F/TMP/XE) e condição do esmalte (erodido, pós-tratamento, 1º, 2º, 3º e 4º desafios erosivos) foram considerados fatores de variação, enquanto %SH e $\Delta\%SH$, como variáveis. Os dados mostraram distribuições normal (teste de Shapiro-Wilk) e homogênea (teste de Cochran) e, portanto, foram submetidos à análise de variância de medidas repetidas a dois critérios, seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. A análise foi realizada pelo software SigmaPlot (versão 12.0, SigmaPlot, Systat Software Incorporation, San Jose, CA, EUA) ao nível de significância de 5%.

Resultados

A análise de F nos dentifrícios experimentais mostrou em média concentrações de FI 17% menores do esperado para os dentifrícios com 200 ppm F e dentro do proposto para os dentifrícios com 1100 ppm F e sem F (Placebo e XE). Todos os dentifrícios experimentais apresentaram pH neutro (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores médios da concentração (ppm F) de fluoreto total (FT) e iônico (FI) e de pH nos dentifrícios experimentais

Dentifrícios	ppm F nos dentifrícios		pH
	FT	FI	
Placebo	21,4	18,0	6,98
	(1,5)	(1,9)	(0,04)
1100 ppm F	1107,4	1100,5	7,20
	(26,3)	(27,9)	(0,07)
XE	24,2	22,2	7,05
	(4,9)	(4,0)	(0,08)
200 ppm F/ TMP	179,7	156,6	7,00
	(13,7)	(1,6)	(0,05)
200 ppm F/ TMP/XE	183,3	174,5	6,99
	(4,5)	(5,1)	(0,03)

Após os tratamentos com os dentifrícios, as %SH apresentaram valores positivos indicando um endurecimento superficial do esmalte. O maior ganho mineral foi obtido com o dentifrício 200 ppm F/TMP/XE ($p < 0,05$) seguido pelos grupos XE e 200 ppm F/TMP que não diferiram entre si ($p > 0,05$). Os grupos placebo e 1100 ppm F não diferiram entre si, porém apresentaram os menores valores (Tabela 3).

O processo erosivo (%SH) apresentou diferença estatística entre as condições experimentais para cada dentifrício (Tabela 3). Considerando os desafios, o grupo placebo apresentou a maior perda mineral ($p < 0,001$). O dentifrício 200 ppm F/TMP/XE mostrou a menor perda mineral seguido pelo grupo XE ($p < 0,001$). Os grupos 1100 ppm F e 200 ppm F/TMP não apresentaram diferença nos valores de %SH ($p > 0,05$). No 4º desafio, todos os grupos diferiram entre si ($p < 0,001$).

Tabela 3 - Valores médios (DP) da porcentagem de alteração da dureza de superfície (%SH) de acordo com os dentifrícios e a condição analisada em esmalte hígido (n=12)

Condição	Dentifrícios				
	Placebo	1100 ppm F	XE	200 ppm F/ TMP	200 ppm F/ TMP/XE
Pós-trat	0,5 ^{a,A} (0,4)	0,6 ^{a,A} (0,2)	2,3 ^{a,B} (0,6)	1,5 ^{a,A,B} (0,7)	3,5 ^{a,C} (0,6)
1° desafio	-14,4 ^{b,A} (0,8)	-10,8 ^{b,B} (0,9)	-7,3 ^{b,C} (0,9)	-10,3 ^{b,B} (1,1)	-4,3 ^{b,D} (0,9)
2° desafio	-31,4 ^{c,A} (1,0)	-18,1 ^{c,B} (1,1)	-15,2 ^{c,C} (0,6)	-17,1 ^{c,B} (1,2)	-11,4 ^{c,D} (0,8)
3° desafio	-40,8 ^{d,A} (1,4)	-29,7 ^{d,B} (1,6)	-21,2 ^{d,C} (0,7)	-29,3 ^{d,B} (1,2)	-18,6 ^{d,D} (1,1)
4° desafio	-49,9 ^{e,A} (4,2)	-35,7 ^{e,B} (1,6)	-29,6 ^{e,C} (1,0)	-33,8 ^{e,D} (1,0)	-23,0 ^{e,E} (1,2)

Letras minúsculas indicam diferença significativa entre as condições para cada dentifrício. Letras maiúsculas indicam ausência de diferença significativa entre as médias dos dentifrícios para cada condição (ANOVA de medidas repetidas a dois critérios, Student-Newman-Keuls, $p < 0,05$).

Precipitados foram observados nas imagens obtidas por MEV nas superfícies do esmalte hígido após o tratamento com os diferentes dentifrícios (Figura 2). Uma linha tênue de suavização é observada entre a área com depósitos e a área de esmalte hígido sem depósitos (indicada pelas setas). A camada de depósitos mostrou-se fina e homogênea para todos os grupos.

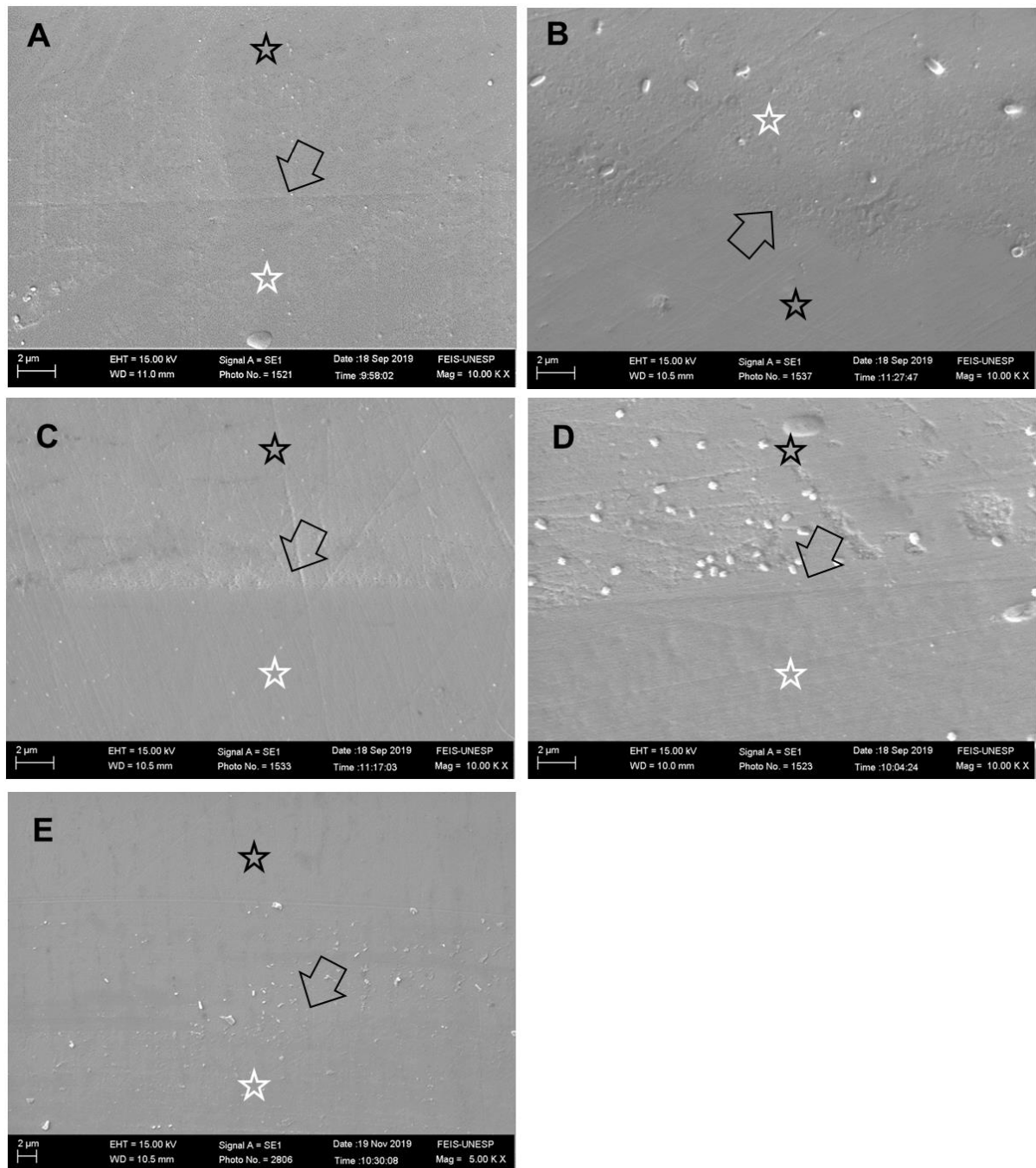


Figura 2 - Imagens de MEV representativas de esmalte hígido tratado em diferentes grupos: (A) Placebo, (B) 1100 ppm F, (C) XE, (D) 200 ppm F/TMP e (E) 200 ppm F/TMP/XE. Asterisco preto indica esmalte hígido. Asterisco branco indica precipitado formado após tratamento. Seta indica limite entre o esmalte hígido e precipitados.

Após a erosão inicial, a perda de dureza de superfície não mostrou diferença entre os tratamentos com os dentifrícios ($p>0,05$). Após os tratamentos com os dentifrícios, houve reparo e ganho de dureza de superfície para todos os grupos, entretanto com diferenças entre eles ($p<0,001$), com maior valor para o grupo 200

ppm F/TMP/XE (Tabela 4). Após os quatro desafios ácidos, houve um aumento na perda da dureza para todos os grupos ($p < 0,001$), mas menor para 200 ppm F/TMP/XE ($p < 0,001$).

Tabela 4 - Valores médios (DP) da porcentagem de alteração da dureza de superfície (%SH) do esmalte previamente erodido (%SHe), da reparação do esmalte erodido (%SHR) e da diferença entre %SHR e %SH pós-desafios ácidos ($\Delta\%$ SH) de acordo com os dentifrícios e a condição analisada em esmalte previamente erodido (n=12)

Condição	Dentifrícios				
	Placebo	1100 ppm F	XE	200 ppm F/TMP	200 ppm F/TMP/XE
Erodido (%SHe)	-11,7 ^a (0,7)	-11,0 ^a (1,1)	-12,1 ^a (1,1)	-12,0 ^a (0,8)	-11,8 ^a (0,3)
Pós-tratado (%SHR)	2,7 ^b (1,1)	21,6 ^c (0,9)	30,1 ^d (1,3)	25,6 ^e (0,9)	54,7 ^f (3,5)
1º desafio ($\Delta\%$SH)	-8,8 ^A (1,3)	12,3 ^B (1,2)	20,7 ^C (1,7)	17,2 ^D (1,2)	49,6 ^E (3,3)
2º desafio ($\Delta\%$SH)	-21,8 ^F (2,0)	6,9 ^G (1,5)	19,2 ^H (2,1)	12,0 ^B (1,2)	45,6 ^I (3,8)
3º desafio ($\Delta\%$SH)	-35,7 ^J (1,6)	-5,9 ^K (1,3)	4,6 ^L (1,5)	-1,3 ^M (1,5)	38,8 ^N (3,6)
4º desafio ($\Delta\%$SH)	-48,1 ^O (1,3)	-16,8 ^P (1,7)	-1,6 ^M (2,1)	-6,7 ^K (1,4)	31,3 ^Q (3,3)

Letras minúsculas indicam diferença significativa entre as condições Erodido e Pós-tratado e os Dentifrícios. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as condições Desafio e os Dentifrícios (ANOVA de medidas repetidas a dois critérios, Student-Newman-Keuls, $p < 0,05$).

Precipitados foram observados pela MEV nas superfícies do esmalte erodido após o tratamento com os diferentes dentifrícios (Figura 3). Uma camada mais espessa e homogênea foi observada com os dentifrícios contendo XE e/ou TMP (Figuras 3C, 3D e 3E).

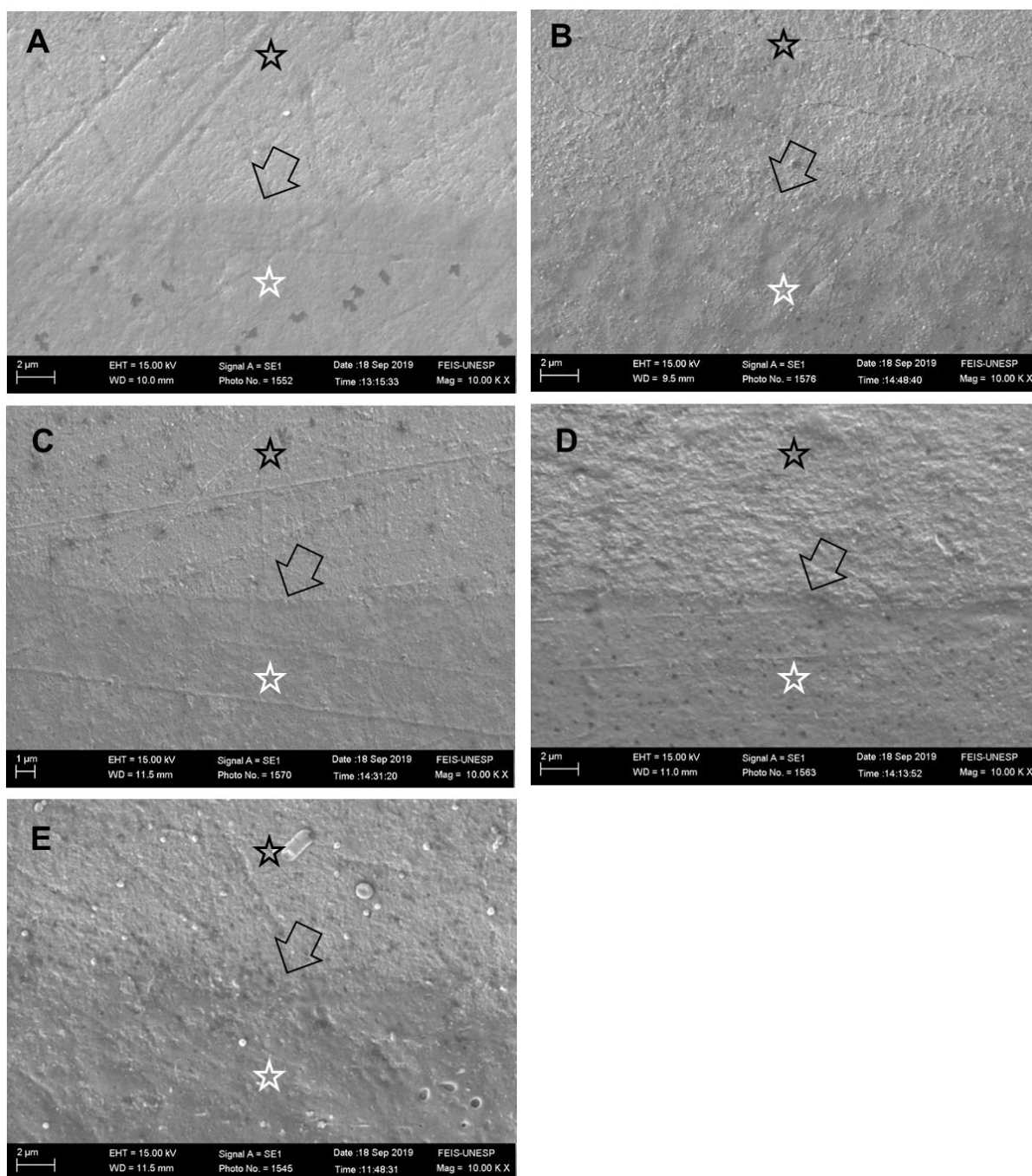


Figura 3 - Imagens de MEV representativas de esmalte erodido tratado pelos diferentes dentífricos: (A) Placebo, (B) 1100 ppm F, (C) XE, (D) 200 ppm F/TMP e (E) 200 ppm F/TMP/XE. Asterisco preto indica esmalte erodido. Asterisco branco indica precipitado formado após tratamento. Seta indica limite entre o esmalte erodido e precipitados.

Discussão

Os resultados do presente estudo mostraram que o dentífrico experimental contendo 200 ppm F, 0,2% TMP, 16% xilitol e 4% eritritol promoveu menor

amolecimento do esmalte quando comparado ao 1100 ppm F. Diante dos dados, a hipótese nula foi rejeitada.

Estudos prévios mostraram que a adição de TMP aumenta o efeito antierosivo de dentifrícios fluoretados [13, 32], mesmo em formulações com concentração reduzida de fluoreto (250 ppm F) [13]. Entretanto, o presente estudo mostrou que o dentifrício contendo 200 ppm F e 0,2% TMP não foi superior em minimizar o amolecimento do esmalte que o dentifrício com 1100 ppm F. A diferença de resultados com os dados anteriores [13] pode estar relacionada à metodologia utilizada e à menor quantidade (-21%) de fluoreto definida para o dentifrício 200 ppm F/TMP. A menor concentração de fluoreto leva alteração na proporção TMP/F, definidas em estudos anteriores [13, 32] como necessária para se obter efeito antierosivo superior aos dentifrícios com 1100 ppm F. Em relação à metodologia, no presente estudo o processo erosivo ficou restrito a um estágio inicial que promove apenas amolecimento, sem perda ou desgaste do esmalte [13, 32]. Desta forma, o produto formado pelo tratamento com o dentifrício 1100 ppm F, que é a deposição de uma barreira de fluoreto de cálcio na superfície do esmalte [1, 33], foi tão efetivo quanto dentifrício contendo 200 ppm F e TMP contra a erosão inicial. Porém, quando o tempo do desafio ácido é maior que 90 segundos em processo erosivo de 2 a 5 dias [13, 32] ou 4 minutos de desafios (Tabelas 3 e 4), os depósitos de fluoreto de cálcio mostraram não ser suficientes para bloquear a difusão de ácidos reduzindo o efeito do dentifrício contendo apenas fluoreto. Isso reforça a hipótese de que o TMP adsorvido ao esmalte forma uma camada na superfície do esmalte que bloqueia a difusão de ácido e reduz o amolecimento do esmalte [13, 32].

Considerando que o xilitol apresenta capacidade de complexar cátions, enquanto o eritritol não complexa cátions [34], ausência de estudos que mostrem o efeito do eritritol sobre a perda mineral do esmalte [35], e que o xilitol corresponde a 80% do total de polióis na formulação, é possível sugerir que os resultados obtidos com o dentifrício contendo XE advém do xilitol. A presença do eritritol na formulação deve-se ao fato de apresentar uma capacidade maior em inibir o crescimento e a aderência bacteriana, a formação de biofilme e a produção de ácidos das bactérias, quando comparado ao xilitol [35], e que a presente formulação tenha efeito contra cárie dentária [26]. Porém, relacionado à erosão dentária, há apenas estudos com xilitol que mostram resultados conflitantes que podem estar relacionados ao tratamento, concentração do poliol e modelo de desafio erosivo [14, 17, 19].

Dentifrícios contendo xilitol (10% de xilitol associado ou não a 1030 ppm F) foram incapazes de reduzir a erosão do esmalte [14]. A mesma ineficiência foi observada com a adição de 25% de xilitol ao agente erosivo [17]. Em contraste, outro estudo mostrou que solução contendo 20% de xilitol apresentou efeito antierosivo, enquanto que concentração a 10% foi ineficiente [19]. Entretanto, a manutenção do efeito é limitada após sucessivos desafios erosivos e que a associação com reduzida concentração de fluoreto apresenta efeito aditivo contra a erosão [17]. Diferentemente dos estudos anteriores, o processo erosivo no presente delineamento foi considerado inicial, produzindo apenas o amolecimento do esmalte sem perda de estrutura. Somando-se a isto, todos os dentifrícios foram diluídos em saliva humana previamente ao tratamento. Entre os polióis utilizados no estudo, o xilitol tem potencial para formar ligações fortes com cátions polivalentes com os conjuntos ligante tridentado (H-C-OH), porém, conforme previamente mencionado, o eritritol raramente complexa cátions [34]. Assim, durante o tratamento com a suspensão em saliva humana dos dentifrícios contendo polióis, o xilitol adsorvido à superfície do esmalte hígido provavelmente levou a deposição de uma camada contendo fosfato de cálcio que foi eficiente contra sucessivos desafios erosivos (Tabela 3 e Figura 2). A capacidade de complexar cátions pode também reduzir a penetração do ácido para o interior do esmalte, contribuindo para um melhor efeito antierosivo, explicando os melhores efeitos quando comparado ao dentifrício contendo 1100 ppm F e 200 ppm F/TMP. Assim, apesar de todas as formulações experimentais terem demonstrado efeitos protetores e reparadores imediatos (primeiro desafio) e sustentados (segundo ao quarto desafio), dentifrícios contendo polióis foram especialmente eficazes em sustentar os efeitos antierosivos quando comparados aos dentifrícios Placebo, 1100 ppm F e 200 ppm F/TMP.

Associar diferentes agentes a uma formulação dentifrícia pode levar a efeitos sinérgicos, aditivos ou antagônicos. No presente estudo, o dentifrício 200 ppm F/TMP/XE levou a um efeito que pode ser classificado como aditivo, pois o efeito final foi maior que o efeito individual de cada agente. O efeito antierosivo e a capacidade em reparar e manter este efeito após sucessivos desafios foram maiores que os dentifrícios contendo polióis ou F/TMP. A hipótese seria que houve adsorção do TMP e polióis pelo esmalte e que esta camada provavelmente favoreceu a precipitação de fosfato de cálcio associado ao fluoreto e minimizou a difusão de ácido para o interior do esmalte. Uma das evidências que suportam esta afirmação é

o aumento da %SH do esmalte hígido e erodido, após um único tratamento com o dentifrício 200 ppm F/TMP/XE (Tabelas 3 e 4). Comparando as imagens da MEV do esmalte hígido e erodido (Figuras 2 e 3), a camada depositada na superfície do esmalte diferiu qualitativamente entre os grupos, podendo ter influenciado parcialmente na dureza da superfície. É importante entender que o arranjo estrutural das moléculas depositadas na superfície do esmalte, induzida por cada dentifrício, pode levar a uma dureza diferente. No esmalte erodido que apresenta uma superfície mais reativa, é possível observar uma camada depositada que pode também ter influenciado a dureza, porém, os valores indicam mais provavelmente um aumento no conteúdo mineral do esmalte, independente do dentifrício aplicado (Tabela 4 e Figura 3). Outra evidência foi a capacidade superior da camada depositada pelo dentifrício 200 ppm F/TMP/XE em resistir aos sucessivos desafios ácidos (Tabelas 3 e 4).

Todos os dentifrícios produziram reparação ou ganho mineral após o amolecimento inicial do esmalte. Entretanto, a resistência do esmalte reparado aos desafios ácidos foi diferente entre os tratamentos (Tabela 4). Estes depósitos também ocorreram no esmalte hígido e, apesar de apresentarem quantidades menores (Figura 2), o efeito diferiu entre os dentifrícios. Isto dá sustentação à idéia postulada anteriormente de que os depósitos apresentam composição distintas. É importante dizer que o esmalte não apresenta capacidade de induzir a precipitação de fosfato de cálcio [36]. *In vivo*, essa indução é produzida pelas proteínas contidas na película (i.e., estaterina e histatina) que apresentam afinidade para íons cálcio e fosfato, além de levar a uma proteção contra os desafios ácidos [2]. O presente estudo utilizou saliva humana no tratamento com os dentifrícios mostrando que a associação F/TMP/XE apresenta uma capacidade biomimética superior. Clinicamente, o produto apresentará um impacto no tratamento da erosão dentária, pois independente da presença de película adquirida ou da condição do esmalte, a associação F/TMP/XE induzirá a deposição de cristais de apatita.

Este modelo experimental de erosão inicial fornece informações valiosas sobre os efeitos de agentes preventivos e reparadores contra o amolecimento do esmalte após a exposição a desafios ácidos, sendo a determinação de dureza da superfície adequada para analisar desafios ácidos no esmalte sem perda quantitativa de substância [37]. Assim, o modelo permite determinar quanto o esmalte está amolecido e o quanto está susceptível à reparação e perda de substância na

continuidade do processo erosivo ou na presença da abrasão. Porém, há necessidade de analisar os achados do presente estudo em um experimento a longo prazo. Também, deve-se atentar para algumas limitações dos resultados como: a ausência do efeito abrasivo da escovação e a utilização do esmalte bovino que é mais susceptível aos ataques ácidos. Além disso, devido a complexa interação entre os aspectos químicos, físicos e comportamentais envolvidos no desgaste erosivo do esmalte, avaliar *in vitro* associações de agentes com potencial antierosivo em dentifrícios produz informações relevantes sobre o processo erosivo e o real benefício dessas formulações para a prática clínica.

Baseado nos resultados da metodologia *in vitro*, concluiu-se que dentifrício contendo 200 ppm F, 0,2% TMP, 16% de xilitol e 4% de eritritol apresentou efeito protetor e reparador superior quando comparado a um dentifrício placebo e 1100 ppm F em lesões erosivas iniciais no esmalte.

Referências

1. Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MA (2009) Insights into preventive measures for dental erosion. J Appl Oral Sci 17:75–86. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-77572009000200002>
2. Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT (2012) Saliva and dental erosion. J Appl Oral Sci 20:493–502. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-77572012000500001>
3. Schlueter N, Luka B (2018) Erosive tooth wear - a review on global prevalence and on its prevalence in risk groups. Br Dent J 224:364–370. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.167>
4. Papagianni CE, van der Meulen MJ, Naeije M, Lobbezoo F. Oral health-related quality of life in patients with tooth wear (2013) J Oral Rehabil 40:185–190. <https://doi.org/10.1111/joor.12025>
5. Wong MC, Glenny AM, Isang BW, Lo EC, Worthing HV, Marinho VC (2010) Topical fluoride as a cause of dental fluorosis in children. Cochrane Database Syst Rev 7:CD007693. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007693.pub2>

6. Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Marinho VC, Jeroncic A (2019) Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. Cochrane Database Syst Rev 3:CD007868. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007868.pub3>
7. Ponduri S, Macdonald E, Addy M (2005) A study in vitro of the combined effects of soft drinks and tooth brushing with fluoride toothpaste on the wear of dentine. Int J Dent Hyg 3:7–12. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2004.00110.x>
8. Magalhães AC, Rios D, Delbem AC, Buzalaf MA, Machado MA (2007) Influence of fluoride dentifrice on brushing abrasion of eroded human enamel: an in situ/ex vivo study. Caries Res 41:77–79. <https://doi.org/10.1159/000096110>
9. Barbour ME, Lussi A, Shellis RP (2011) Screening and prediction of erosive potential. Caries Res 45:24–32. <https://doi.org/10.1159/000325917>
10. do Amaral JG, Delbem ACB, Pessan JP, Manarelli MM, Barbour ME (2016) Effects of polyphosphates and fluoride on hydroxyapatite dissolution: A pH-stat investigation. Arch Oral Biol 63:40–46. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.11.023>
11. Manarelli MM, Pessan JP, Delbem AC, Amaral JG, Paiva MF, Barbour ME (2017) Protective effect of phosphates and fluoride on the dissolution of hydroxyapatite and their interactions with saliva. Caries Res 51:96–101. <https://doi.org/10.1159/000452716>
12. Moretto MJ, Magalhães AC, Sassaki KT, Delbem AC, Martinhon CC (2010) Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. Caries Res 44:135–140. <https://doi.org/10.1159/000302902>
13. Cruz NV, Pessan JP, Manarelli MM, Souza MD, Delbem AC (2015) In vitro effect of low-fluoride toothpastes containing sodium trimetaphosphate on enamel

- erosion. Arch Oral Biol 60:1231–1236.
<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.05.010>
14. Rochel ID, Souza JG, Silva TC, Pereira AF, Rios D, Buzalaf MA, Magalhães AC (2011) Effect of experimental xylitol and fluoride-containing dentifrices on enamel erosion with or without abrasion in vitro. J Oral Sci 53:163–168.
<https://doi.org/10.2334/josnugd.53.163>
 15. Soderling E, Pihlanto-Leppala A (1989) Uptake and expulsion of ¹⁴C-xylitol by xylitol–cultured Streptococcus mutans ATCC 25175 in vitro. Scand J Dent Res 97:511–519. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1989.tb00925.x>
 16. Ghezelbash GR, Nahvi I, Rabbani M (2012) Comparative inhibitory effect of xylitol and erythritol on the growth and biofilm formation of oral Streptococci. Afr J Microbiol Res 6:4404–4408. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.1122>
 17. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM (1998) The influence of xylitol and fluoride on dental erosion in vitro. Arch Oral Biol 43:157–161.
[https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(97\)00109-X](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(97)00109-X)
 18. Chunmuang S, Jitpukdeebodintr S, Chuenarrom C, Benjakul P (2007) Effect of xylitol and fluoride on enamel erosion in vitro. J Oral Sci 49:293–297.
<https://doi.org/10.2334/josnugd.49.293>
 19. Souza JG, Rochel ID, Pereira AF, Silva TC, Rios D, Machado MA, Buzalaf MA, Magalhães AC (2010) Effects of experimental xylitol varnishes and solutions on bovine enamel erosion in vitro. J Oral Sci 52:553–559.
<https://doi.org/10.2334/josnugd.52.553>
 20. Alexandria AK, Vieira TI, Pithon MM, da Silva Fidalgo TK, Fonseca-Gonçalves A, Valença AM, Cabral LM, Maia LC (2017) In vitro enamel erosion and abrasion-

- inhibiting effect of different fluoride varnishes. Arch Oral Biol 77:39–43. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.01.010>
21. Marcato RA, Delbem ACB, Danelon M, Pessan JP, Emerenciano NG, Ishikawa AS, Cannon M, Dezan-Garbelini CC (2018) Avaliação in situ de dentifrícios fluoretados suplementados com polióis e trimetafosfato de sódio sobre a desmineralização do esmalte. Braz Oral Res 32(suppl 2): 334. (Resumo PN0679).
 22. Cardoso CA, de Castilho AR, Salomão PM, Costa EN, Magalhães AC, Buzalaf MA (2014) Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in vitro. J Dent 42:1495–1501. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.08.009>
 23. Viana PS, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE (2010) Microwave irradiation disinfection of bovine enamel. Caries Res 44:349–357. <https://doi.org/10.1159/000318528>
 24. Vieira AEM, Delbem ACB, Sassaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF (2005) Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. Caries Res 39:514–520. <https://doi.org/10.1159/000088189>
 25. Argenta RM, Tabchoury CP, Cury JÁ (2003) A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. Pesqui Odontol Bras 17:241–246. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-74912003000300008>
 26. Delbem AC, Sassaki KT, Vieira AE, Rodrigues E, Bergamaschi M, Stock SR, Cannon ML, Xiao X, De Carlo F, Delbem AC (2009) Comparison of methods for evaluating mineral loss: hardness versus synchrotron microcomputed tomography. Caries Res 43:359–365. <https://doi.org/10.1159/000231573>

27. Wetton S, Hughes J, Newcombe RG, Addy M (2007) The effect of saliva derived from different individuals on the erosion of enamel and dentine. A study in vitro. *Caries Res* 41:423–426. <https://doi.org/10.1159/000104802>
28. Nekrashevych Y, Stösser L (2003) Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. *Caries Res* 37:225–231. <https://doi.org/10.1159/000070449>
29. Schipper R, Loof A, De Groot J, Harthoorn L, Dransfield E, van Heerde W (2007) SELDI-TOFMS of saliva: methodology and pre-treatment effects. *J Chromatogr B* 847:45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.10.005>
30. Baumann T, Kozik J, Lussi A, Carvalho TS (2016) Erosion protection conferred by whole human saliva, dialysed saliva, and artificial saliva. *Sci Rep* 6:34760. <https://doi.org/10.1038/srep34760>
31. Baumann T, Bereiter R, Lussi A, Carvalho TS (2017) The effect of different salivary calcium concentrations on the erosion protection conferred by the salivary pellicle. *Sci Rep* 7:12999. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13367-3>
32. Danelon M, Pessan JP, Santos VRD, Chiba EK, Garcia LSG, de Camargo ER, Delbem ACB (2018) Fluoride toothpastes containing micrometric or nano-sized sodium trimetaphosphate reduce enamel erosion in vitro. *Acta Odontol Scand* 76:119–124. <https://doi.org/10.1080/00016357.2017.1388442>
33. Danelon M, Takeshita EM, Sasaki KT, Delbem AC (2013) In situ evaluation of a low fluoride concentration gel with sodium trimetaphosphate in enamel remineralization. *Am J Dent* 26:15–20.
34. Mäkinen KK, Söderling E (1984) Solubility of calcium salts, enamel, and hydroxyapatite in aqueous solutions of simple carbohydrates. *Calcif Tissue Int* 36:64–67. <https://doi.org/10.1007/BF02405295>

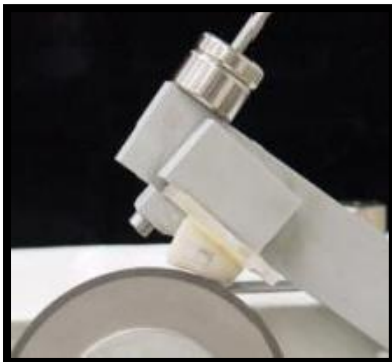
35. de Cock P, Mäkinen K, Honkala E, Saag M, Kennepohl E, Eapen A (2016) Erythritol is more effective than xylitol and sorbitol in managing oral health endpoints. *Int J Dent* 2016:9868421. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9868421>
36. Neves JG, Danelon M, Pessan JP, Figueiredo LR, Camargo ER, Delbem ACB (2018) Surface free energy of enamel treated with sodium hexametaphosphate, calcium and phosphate. *Arch Oral Biol* 90:108–112. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.03.008>
37. Stenhagen KR, Hove LH, B. Holme B, Taxt-Lamolle S, Tveit AB (2010) Comparing different methods to assess erosive lesion depths and progression in vitro. *Caries Res* 44:555–561. <https://doi.org/10.1159/000321536>

ANEXOS

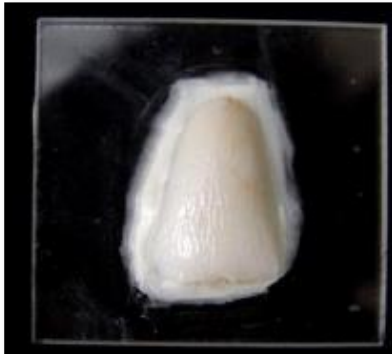
ANEXO A – Obtenção e preparo dos blocos de esmalte



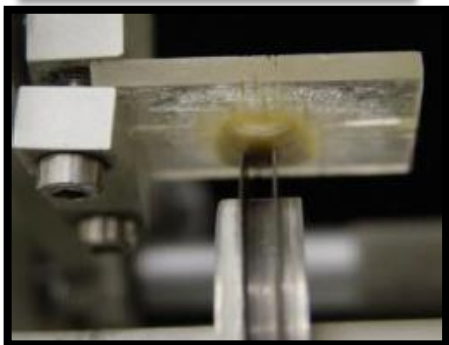
Coroa do dente bovino incisivo central inferior, separada da raiz através de disco diamantado de duas faces (KG Sorensen D 91), montado em motor de bancada (Nevoni), mantido sob refrigeração (água destilada/deionizada).



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



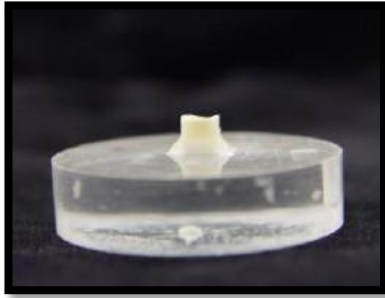
Face vestibular fixada na placa de acrílico.



Secção da face vestibular no sentido longitudinal, na porção mais plana, utilizando-se 2 discos diamantados (série 15 HC Diamond – n. 11-4243 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.



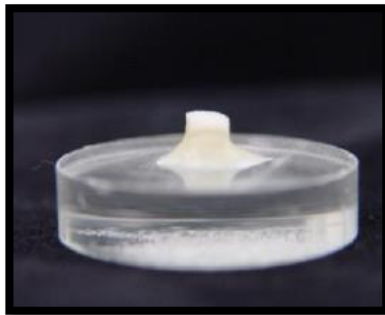
Fragmento vestibular do dente bovino, fixado sobre placa de resina. Ao lado, bloco de esmalte



Bloco de esmalte fixado em disco de resina acrílica pré-fabricada (3 cm de diâmetro por 8 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA), com a superfície dentinária voltada para cima.



Polimento de dentina, utilizando politriz Beta Grinder-Polisher (Buehler) com lixa de granulação 320 (CARBIMET Paper Discs, 30-5108-320, Buehler), durante 20 segundos sob baixa rotação e refrigeração.



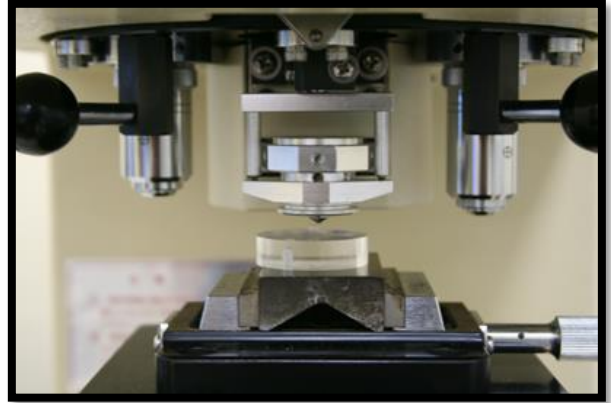
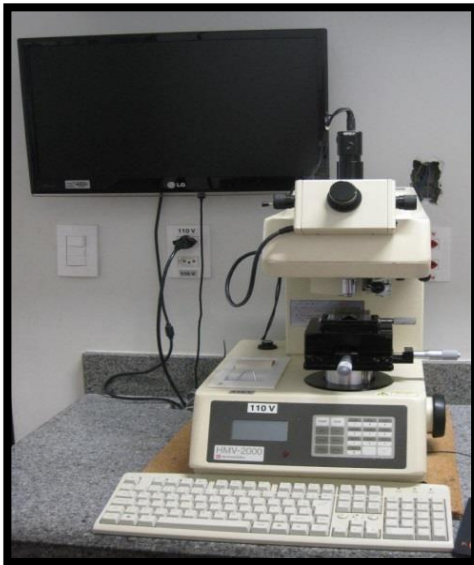
Blocos fixados com a superfície do esmalte voltada para cima, a qual foi polida para análise de dureza.

Sequência do polimento do esmalte

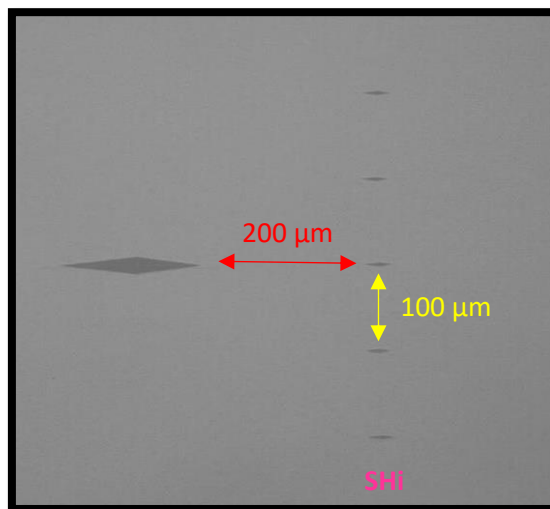
A. Na politriz Beta Grinder-Polisher (Buehler) - lixas de granulação 600, 800 e 1200 (30 segundos) sob refrigeração à água e, para finalizar, acabamento com disco de papel feltro TEXMET 1000 (Buehler Polishing Cloth) (1 minuto) e suspensão de diamante 1 micron base-água (Buehler).

B. Limpeza em lavadora ultrassônica (Ultramet Sonic Cleaning Solution - Buehler) em água destilada/deionizada (20 minutos).

ANEXO B – Análise da dureza de superfície inicial

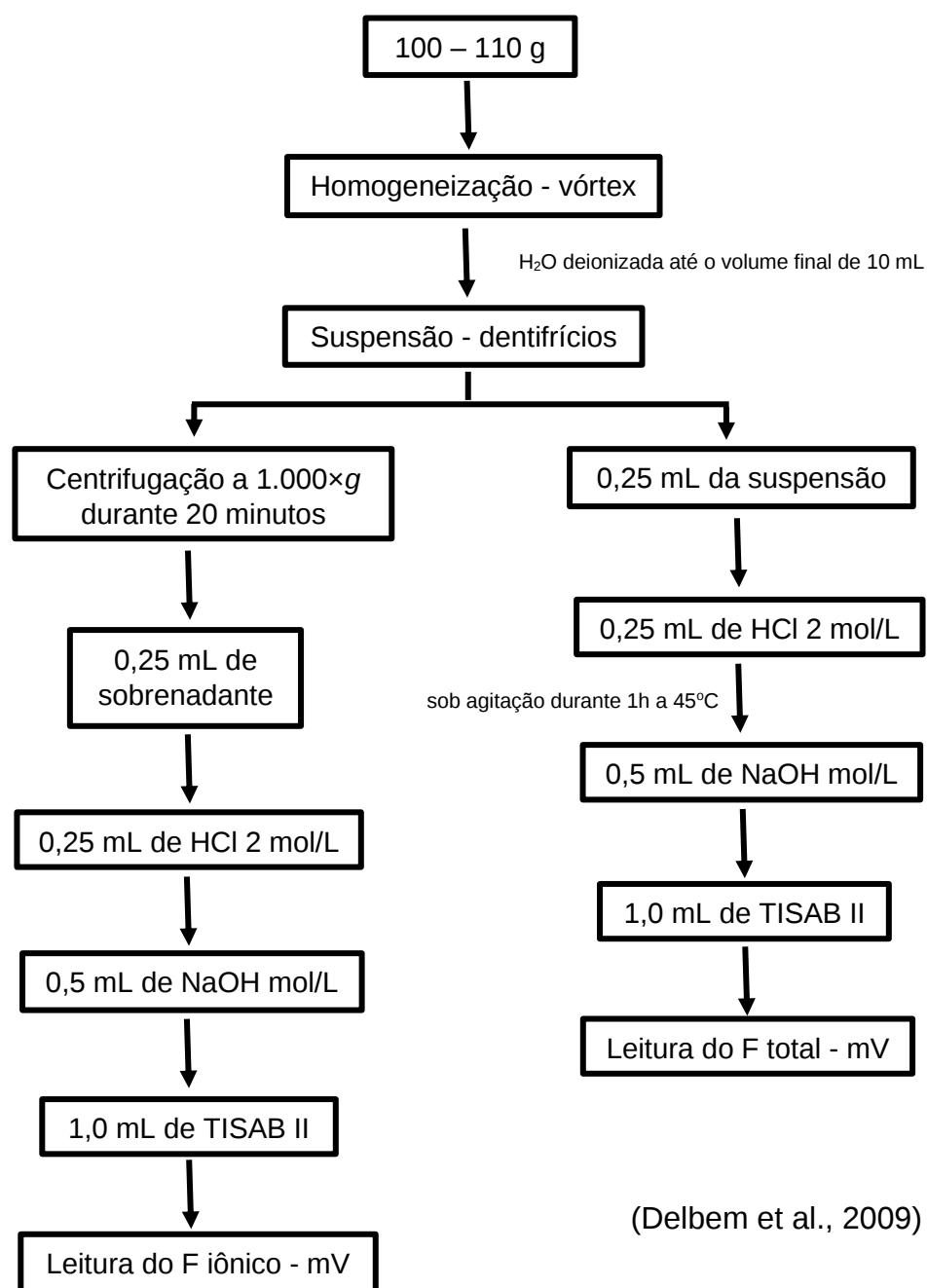


Microdurômetro Shimadzu



1ª Impressão: do centro do bloco 1000 μm , carga de 500 g, 10 segundos.
Após o vértice 200 μm , carga de 25 g, 10 segundos.

ANEXO C – Dosagem de fluoreto nos dentifrícios experimentais



**Eletrodo específico para F;
Microeletrodo de referência;
Analisador de íons.**

ANEXO D – Comitê de ética

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito de dentifrícios com reduzida concentração de fluoreto contendo trimetafosfato de sódio e polióis na erosão do esmalte.

Pesquisador: Denise Pedrini

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 92746618.3.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.758.492

Apresentação do Projeto:

Com o intuito de avaliar o efeito in vitro de dentifrícios de baixa concentração de fluoreto associado a TMP, xilitol e eritrítol, blocos de esmalte bovino serão selecionados pela dureza de superfície inicial (SHi) e divididos em 5 grupos (n = 12/grupo): placebo (sem fluoreto, TMP, xilitol e eritrítol); 16% xilitol + 4% eritrítol; 200 ppm F + 0,2% TMP; 200 ppm F + 0,2% TMP+ 16% xilitol + 4% eritrítol; e 1100 ppm F. Para a análise do efeito protetor em lesões erosivas iniciais (n = 60), os dentifrícios serão aplicados uma vez nos blocos e a seguir serão realizados 4 desafios erosivos (ácido cítrico, 0,75%, pH = 3,5, 1 minuto, sob agitação). Dureza de superfície final (SHf) será realizada após cada desafio, para calcular a porcentagem de alteração da dureza de superfície (%SHC). Para a análise do efeito reparador em lesões erosivas iniciais (n = 60), após os blocos serem imersos em ácido cítrico, será determinada a dureza de superfície do esmalte erodido (SHE). A seguir, os blocos serão tratados com suspensão de dentifrícios em SALIVA HUMANA e determinada novamente a dureza para o cálculo da porcentagem de reparação do esmalte erodido (%SHR). Serão realizados 4 desafios erosivos com ácido cítrico e SHf após cada desafio.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste estudo será avaliar in vitro o efeito do dentifrício de baixa concentração de fluoreto (200 ppm F) associado ao TMP (0,2%), 16% de xilitol e 4% de eritrítol na erosão inicial do

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3200

Fax: (18)3636-3332

E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.758.492

esmalte.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Haverá risco mínimo, pois haverá coleta de saliva que será estimulada com auxílio de parafina, sendo expectorada em frasco estéril.

Benefícios:

O benefício será entender melhor o mecanismo de ação da associação fluoreto/TMP/xilitol/eritritol no processo da erosão do esmalte.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será coletada saliva humana de 6 voluntários adultos saudáveis, 1 hora após o café da manhã, que apresentarem boa saúde geral e bucal, ausência de xerostomia ou baixo fluxo salivar e não estiverem fazendo uso de qualquer medicamento que altere o fluxo salivar e sejam fumantes. A saliva será estimulada com auxílio de parafina (Parafilm® M), durante 15 minutos, sendo coletada em um recipiente plástico estéril e contidos em gelo. A saliva será centrifugada e a seguir filtrada. O sobrenadante será coletado para a formação da película adquirida, sendo armazenada a -80°C (Schipper et al., 2007). Para o tratamento com os dentífricos e análise do efeito protetor em lesões erosivas iniciais, blocos hígidos serão imersos (2 mL/bloco) em suspensão de dentífricos em saliva humana (1:3 - peso:peso) apenas uma vez durante 2 minutos, e a seguir serão lavados em água deionizada por 30 segundos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram apresentados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP recomenda a aprovação do projeto de pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Salientamos que, de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 02/01/2019.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193		CEP: 16.015-050
Bairro: VILA MENDONÇA		
UF: SP	Município: ARACATUBA	
Telefone: (18)3636-3200	Fax: (18)3636-3332	E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

Página 02 de 03

Priscila Toninatto Alves de Toledo

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.758.492

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1168915.pdf	28/06/2018 17:24:00		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.pdf	28/06/2018 17:22:54	Denise Pedrini	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	28/06/2018 16:58:26	Denise Pedrini	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projetodepesquisa.pdf	28/06/2018 15:13:16	Denise Pedrini	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACATUBA, 06 de Julho de 2018

Assinado por:
Aldiéris Alves Pesqueira
(Coordenador)

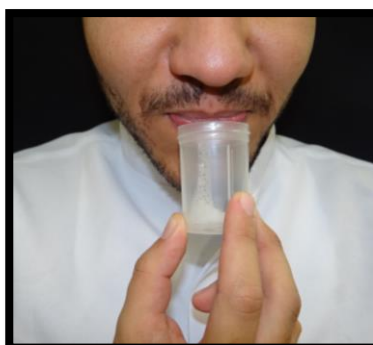
Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** andrebertoz@foa.unesp.br

Página 03 de 03

Priscila Toninatto Alves de Toledo

ANEXO E – Coleta de saliva humana

Frente a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana (CAEE: 92746618.3.0000.5420), foi coletada saliva humana de 6 voluntários saudáveis no período da manhã, pelo menos 1 hora após a ingestão do café da manhã. Cada voluntário recebia um pedaço de Parafilm para ajudar na produção da saliva e um recipiente plástico onde depositavam por 20 minutos toda saliva produzida. Ao final, toda saliva coletada foi homogeneizada em um becker e vertida em vários falcons de 15 mL. Em seguida, esses falcons eram levados a uma centrífuga, por 10 minutos, a 4°C, força de 2.000×g. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados em frascos de 50 mL a -72°C.



Voluntário doando saliva



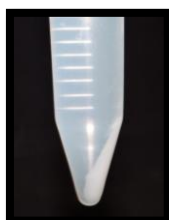
Preparo da saliva em tubos



Centrifugação da saliva em 2.000×g por 10 minutos



Separação do líquido sobrenadante e pellet

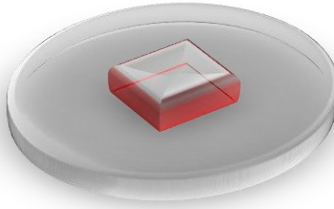


Líquido sobrenadante armazenado em frascos de 50 mL e mantido em freezer a -72°C

ANEXO F – Tratamento com os dentifrícios e análise do efeito protetor em lesões erosivas iniciais



Proteção do bloco de esmalte bovino com esmalte cosmético



Fixação dos blocos em bases de resina acrílica



Bases fixadas em dispositivo para realização do tratamento e desafios



Descongelamento da saliva humana em banho maria a 37°C



Diluição dos dentifrícios experimentais em saliva humana 1:3



Tratamento com os dentifrícios experimentais por 2 minutos



Lavagem com água deionizada por 30 segundos



4 desafios erosivos com duração de 1 minuto cada

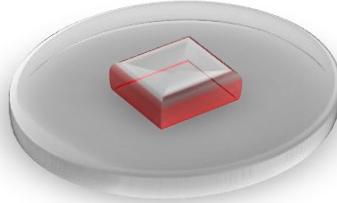


Lavagem com água deionizada por 30 segundos entre cada desafio erosivo

ANEXO G – Tratamento com os dentifrícios e análise do efeito reparador em lesões erosivas iniciais



Proteção do bloco de esmalte bovino com esmalte cosmético



Fixação dos blocos em bases de resina acrílica



Bases fixadas em dispositivo para realização do tratamento e desafios



Descongelamento da saliva humana em banho maria a 37°C



Diluição dos dentifrícios experimentais em saliva humana 1:3



1 desafio erosivo com duração de 1 minuto para produzir lesão erosiva inicial



Tratamento com os dentifrícios experimentais por 2 minutos



Lavagem com água deionizada por 30 segundos



4 desafios erosivos com duração de 1 minuto cada



Lavagem com água
deionizada por 30
segundos entre cada
desafio erosivo

ANEXO H – Análise de microscopia eletrônica de varredura



Metalização da amostra com uma camada de ouro com espessura de aproximadamente 5 nm



Microscópio eletrônico de varredura (Carl Zeiss, EVO ILS15)

Imagens com aumento de 10.000 × a 20 kv