

MARCELO JULIANO MORETTO

**EFEITO DO USO DE DENTIFRÍCIOS COM ALTA E BAIXA
CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO SUPLEMENTADO COM
TRIMETAFOSFATO SOBRE A EROSÃO E ABRASÃO DO ESMALTE
DENTÁRIO BOVINO. ESTUDO *IN VITRO*.**

ARAÇATUBA -SP

2009

MARCELO JULIANO MORETTO

**EFEITO DO USO DE DENTIFRICIOS COM ALTA E BAIXA
CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO SUPLEMENTADO COM
TRIMETAFOSFATO SOBRE A EROSÃO E ABRASÃO DO ESMALTE
DENTÁRIO BOVINO. ESTUDO *IN VITRO*.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Araçatuba, para obtenção de título de Mestre em Odontopediatria.

Orientadora: Prof^a Dr^a Cleide Cristina Rodrigues Martinhon

ARAÇATUBA -SP

2009

Dados Curriculares

Marcelo Juliano Moretto

Nascimento	15.05.1978 – Jaú- SP
Filiação	Luiz Carlos Moretto Maria de Fátima Pascucci Moretto
1996/1999	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade do Sagrado Coração, USC – Bauru.
2003/2004	Curso de Especialização em Odontopediatria pela Faculdade de Odontologia de Bauru, FOB-USP.
2007/2009	Curso de Pós Graduação em Odontopediatria, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba, FOA-UNESP.
Associações	CROSP – Conselho Regional de Odontologia de São Paulo SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica APCD – Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas IADR – International Association for Dental Research

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente a Deus; pois, sem Ele, nada seria possível e não estaríamos aqui reunidos, desfrutando, juntos, destes momentos que nos são tão importantes.

Aos meus pais Luiz Carlos e Maria de Fátima

Pelo esforço, dedicação e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas.

À Carol

Mesmo com todas as dificuldades, estive sempre ao meu lado, me ajudando, me dando forças, alegria, compreensão, sem você não teria conseguido. Obrigado por seu amor, pelas palavras de incentivo e pelo apoio incondicional. Meu amor, quando digo que te amo profundamente estou descrevendo apenas superficialmente tudo o que sinto.

Aos meus irmãos Márcio e Milena

Nossos caminhos são diferentes. Mas, às vezes, eles se cruzam, então nesses momentos voltamos a caminhar juntos e na mesma direção. Amo muito vocês.

Ao Claudinei e Suzana

*Vocês me receberam como um verdadeiro filho,
obrigado pelo convívio e pela compreensão.*

À Luciana

*Obrigado pelo apoio, pelo incentivo e
principalmente pelo exemplo de dedicação e
profissionalismo.*

À Gabriela e Eduardo

*Dizem que cunhados a gente não escolhe, mas
também, se tivesse escolhido, com certeza não
teria encontrado pessoas tão maravilhosas como
vocês.*

À pequena Lívia

*Obrigado por iluminar a minha vida e de todos que
a conhecem. Como um ser tão indefeso e ingênuo
pode nos confortar em momentos tão difíceis...*

*“A família é muito maior do que se imagina. Ela representa o passado,
o presente e também o futuro.”*

Luiz Antônio Alves

**Agradecimentos
Especiais**

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Cleide Cristina Rodrigues Martinhon, obrigado por ter me orientado de forma sábia, me direcionando para o melhor caminho. Agradeço também pela amizade e carinho e, sobretudo, pelo exemplo de força de vontade e determinação.

À Prof^a Dr^a Ana Carolina Magalhães (Departamento de Bioquímica, FOB-USP) pelo conhecimento compartilhado, pelos ensinamentos, conselhos e pelo auxílio durante a execução das análises deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Botazzo Delbem pela disponibilidade, pela paciência e conselhos que foram muito importantes para a concretização deste trabalho.

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

*"O professor medíocre conta. O bom professor explica.
O professor superior demonstra. O grande professor
inspira."*

Cimar Correa

Agradecimientos

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

Ao Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba –UNESP, na pessoa de seu coordenador Prof. Dr. Robson Frederico Cunha e da vice-coordenadora Prof^a Dr^a Kikue Takebayashi Sasaki.

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

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

Ao Prof. Dr. Rafael Francisco Lia Mondelli (Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários, FOB-USP), que gentilmente nos cedeu o rugosímetro para as análises deste trabalho.

Às funcionárias do departamento de dentística da Faculdade de Odontologia de Bauru FOB-USP, Rita e Ângela, pela disponibilidade e atenção.

Ao departamento de bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru FOB-USP, por permitir o uso de suas instalações para análise deste trabalho, especialmente a Profa. Dra. Ana Carolina Magalhães, por estar sempre presente e disposta a ajudar.

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

A todos os amigos de turma de mestrado: Tatyana, Simone, Isabelle, Lilian, Alessandra e Daniela.

A todos os colegas que fizeram parte do curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, em especial à Rebeca, pela amizade e pelo socorro prestado.

Aos amigos do Laboratório que sempre incentivaram, ajudaram e compreenderam o esforço na realização desse trabalho, Ana Elisa, Ana Carolina, Karina Mirela, Carol Lodi, Kélio, Fenanda, Eliana, Tamara, Marcelle, Michelle, Luciene e Jackeline

À Eliana Rodrigues, Fernanda Brighenti, Ana Carolina (Tuca) e Eliana Takeshita por terem me ensinado e aconselhado nos momentos iniciais da realização deste trabalho e me ensinaram a dinâmica do laboratório.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da UNESP, Ana Cláudia, Cláudio, Ivone, Izamar, Luzia, Maria Cláudia e Marina pela atenção e disponibilidade com que sempre me receberam.

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

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

Ao Departamento de Odontologia Restauradora, disciplina de endodontia, pelo incentivo durante os trabalhos, em especial, Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho e Prof. Dr. Eloi Dezan Junior.

Aos amigos que participaram e me incentivaram durante estes dois anos de pós-graduação, em especial ao irmão Dr. Renato José Berro.

Ao Frigorífico Friboi, em especial, ao veterinário Henrique Borges, que permitiu a coleta dos dentes bovinos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela concessão de recursos que possibilitaram a realização deste Curso de Mestrado.

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

Minha eterna gratidão...

“Para conseguir a amizade de uma pessoa digna é preciso desenvolver em nós mesmos as qualidades que naquela admiramos”.

Sócrates

Epígrafe

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”

Leonardo da Vinci

Resumo

MORETTO, M.J. **Efeito do uso de dentifrícios com alta e baixa concentração de fluoreto suplementado com trimetafosfato sobre a erosão e abrasão do esmalte dentário bovino. Estudo *in vitro*.** Araçatuba, 2009. 78f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2009.

O presente estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* a ação de dentifrícios com alta e baixa concentração de fluoretos suplementado com trimetafosfato sobre a erosão associada ou não a abrasão. Foram utilizados 150 blocos de esmalte bovino (4x4mm) que após polimento foram selecionados através da microdureza de superfície (SMH inicial). Em seguida foram divididos em 5 grupos (n=30) de acordo com o dentifrício a ser utilizado: placebo (sem flúor), 1100 µg F/g - Crest™, 1100 µg F/g, 500 µg F/g TMP 3%, 5000 µg F/g. Os blocos foram submetidos ao desafio ácido com Sprite Zero® por 5 minutos 4 vezes ao por um período de 7 dias. Na seqüência todos os blocos receberam tratamento com *slurry* dos dentifrícios (1:3) por 15 segundos. Metade dos blocos (n=15) foi submetido ao processo de abrasão através da escovação por 15 segundos utilizando escova elétrica Colgate Motion®. Todos os blocos permaneceram em saliva artificial antes e após os tratamentos(37°C). A análise estatística foi aplicada considerando como fatores de variação os dentifrícios experimentais (placebo, 1100 µg F/g Crest®, 1100 µg F/g, 500 µg F/g TMP 3% e 5000 µg F/g) e o tipo de desafio erosivo (erosão e erosão/abrasão), e como variável os valores de dureza de superfície antes dos desafios, porcentagem de perda de dureza de superfície (%SMHC) e desgaste da superfície do esmalte (µm). As médias da porcentagem de perda dureza da superfície (% SMHC) e os valores médios do desgaste (µm) para os grupos submetidos a erosão foram de: placebo (sem flúor) 82,26 % e 3,36 µm, 1100 µg F/g - Crest™ 73,38% e 2.46 µm, 1100 µg F/g, 72,86% e 2,46 µm, 500 µg F/g TMP 3% 62,41% e 1,29 µm, 5000 µg F/g 64,06% e 1,46 µm. Já nos grupos submetidos à erosão associada à escovação, as médias da porcentagem de perda dureza da superfície (% SMHC) e os valores médios do desgaste (µm) foram de: placebo 76,63 % e 4,63 µm, 1100 µg F/g - Crest™ 66,15% e 3,10 µm, 1100 µg F/g, 65,48% e 3,43 µm, 500 µg F/g TMP 3% 58,73% e 2,28 µm, 5000 µg F/g 60,37% e 2,18 µm. De acordo com os resultados do presente estudo, pode ser

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

Descritores: erosão dentária, abrasão dentária, dentifrícios, esmalte dentário.

Abstract

MORETTO, M.J. **Effect of the use of dentifrices with high and low concentration of fluoride supplemented with trimetaphosphate on the erosion and abrasion of the bovine dental enamel. *In vitro* Study.** Araçatuba, 2009. 78p. Dissertation (Master's degree) – School of Dentistry, São Paulo State University, Araçatuba, 2009.

The aim of the present study was to evaluate the effectiveness of the application of high and lower fluorinated dentifrices supplementation with Trimetaphosphate on the erosion associated or not to the abrasion. It was used 150 bovine enamel blocks (4x4mm). These blocks were polished and after they were selected by the microhardness surface (initial SMH). After that, they were divided in 5 groups (n=30) in accordance with the dentifrice used: Placebo (without fluoride), 1100 µg F/g Crest™, 1100 µg F/g, 500 µg F/g TMP 3%, 5000 µg F/g. The groups were submitted to the acid challenge with Sprite Zero® for 5 minutes, 4 times to the day, during 7 days. In the sequence all the blocks received treatment with slurry from dentifrices (1: 3) for 15 seconds. Half of each group (n=15) was submitted to the abrasion process by brushing for 15 seconds with electric brush Colgate Motion®. All the blocks remained in artificial saliva before and after the treatments (37°C). The analysis statistics was applied considering as variation factors the experimental dentifrices (placebo, 1100 µg F/g Crest™, 1100 µg F/g, 500 µg F/g TMP 3% and 5000 µg F/g) and the type of erosive challenge (erosion and erosion/abrasion), and as changeable the values of hardness of surface before the challenges, percentage of loss of surface hardness (%SMHC) and consuming of the surface of the enamel (µm). The averages of the percentage of loss hardness of the surface (% SMHC) and the average values of the consuming (µm) for the submitted groups the erosion were: placebo (without fluoride) 82,26 % and 3,36 µm, 1100 µg F/g - Crest™ 73,38% and 2.46 µm, 1100 µg F/g , 72,86% and 2,46 µm, 500 µg F/g TMP 3% 62,41% and 1,29 µm, 5000 µg F/g 64,06% and 1,46 µm. In the groups submitted to the erosion associated to the brushing, the averages of the percentage of loss hardness of the surface (% SMHC) and the average

values of the consuming (μm) were: placebo (without fluoride) 76,63 % and 4,63 μm , 1100 μg F/g - Crest™ 66,15% and 3,10 μm , 1100 μg F/g , 65,48% and 3,43 μm , 500 μg F/g TMP 3% 58,73% and 2,28 μm , 5000 μg F/g 60,37% and 2,18 μm . In accordance with our results, it can be concluded that the use of fluorinated dentifrice 5000 μg F/g and dentifrice 500 μg F/g supplemented with TMP 3% presented greater protective effect on the dental enamel when they were submitted to the acid challenges with or without brushing. However, they were not capable to inhibit the total wear of erosion and erosion associated with the abrasion.

Key words: dental erosion, dental abrasion, dentifrices, dental enamel.

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL	21
RESUMO	29
INTRODUÇÃO	30
MATERIAL E MÉTODO	31
DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	31
PREPARO E POLIMENTO DOS BLOCOS	32
FORMULAÇÃO E DOSAGEM DE FLUORETO E FOSFATO DOS DENTIFRÍCIOS EXPERIMENTAIS	33
DESAFIO ÁCIDO E TRATAMENTO	33
ANÁLISE DA MICRODUREZA DO ESMALTE	34
DETERMINAÇÃO DO DESGASTE SUPERFICIAL	34
ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
RESULTADO	35
DISCUSSÃO	36
REFERÊNCIAS	40
LEGENDA DE TABELAS E FIGURAS	44
TABELAS E FIGURAS	45
ANEXOS	49

INTRODUÇÃO GERAL

Nas últimas décadas foi constatada uma redução significativa na incidência de cárie dentária em muitos países, incluindo o Brasil [Narvai et al. 2006], diante disso, outros tipos de lesões passaram a ser melhor estudadas, como o desgaste dentário ou lesões denominadas não cariosas [Imfeld, 1996].

A erosão dentária é o resultado da perda de estrutura dentária provocada pela ação de ácidos e quelantes que não são de origem bacteriana [Buratto et al., 2002]. Para Moss [1998] e Lussi, Jaeggi, Zero [2004] o desenvolvimento da erosão é influenciado por fatores químicos, comportamentais e biológicos.

Os fatores etiológicos da erosão dentária podem ser intrínsecos e extrínsecos. Entre os fatores extrínsecos mais comuns estão a dieta, o meio ambiente e os medicamentos. Entre os fatores intrínsecos podemos ter a ação dos ácidos oriundos do estômago ou mesmo a diminuição do fluxo salivar [Sobral et al., 2000; Fushida e Cury, 1999].

Já abrasão dentária é um desgaste patológico decorrente da ação de um processo mecânico envolvendo substâncias ou objetos entre superfícies dentárias [Magalhães, Rios, Buzalaf, 2008]. Alguns estudos estabeleceram relação direta entre a erosão e a abrasão, tanto pela ação mecânica da escova como pela ação dos abrasivos contidos nos dentífricos, mostrando que o esmalte erodido é mais susceptível a abrasão [Attin et al., 2000; Rios et al., 2006].

Alguns estudos demonstraram que a ação de bebidas ácidas, como os refrigerantes, torna o esmalte mais frágil e mais susceptível à perda de estrutura por forças mecânicas como a escovação [Attin et al., 2000, Attin et al. 2001, Imfeld et al., 1996]. Normalmente as pessoas escovam seus dentes após refeições que incluem o consumo de comidas e bebidas erosivas [Al-Dlaigan, 2002]. Este comportamento pode resultar em um aumento do desgaste mecânico do esmalte previamente atacado por agentes erosivos [Amaechi et al., 2003]. Por outro lado, se houver a ação remineralizante por um determinado período de tempo o esmalte desmineralizado torna-se mais resistente à abrasão [Attin et al. 2000, Attin et al., 2001].

Diante de tal situação, o fluoreto tem sido utilizado como medida preventiva complementar, para a prevenção da erosão dentária, e apresenta melhores efeitos quando aplicado em altas concentrações. [Sorvari et al., 1994]. Aplicações com alta concentração de fluoreto, como aplicações tópicas de vernizes, bochechos com soluções concentradas têm demonstrado uma diminuição do desenvolvimento da erosão em esmalte [Ganss et al., 1996]. Alguns estudos demonstraram que os dentifrícios fluoretados poderiam aumentar a proteção do esmalte contra os desafios erosivos.

Bartlett, Smith, Wilson [1994] avaliaram a capacidade do dentifrício fluoretado em diminuir o desgaste do esmalte humano, em situações de erosão associada à abrasão pela escovação. Os espécimes submetidos ao dentifrício com fluoreto apresentaram um desgaste (1,89 μm) significativamente menor ($p < 0,001$) do que os espécimes submetidos ao dentifrício sem fluoreto (3,21 μm).

Já Ten Cate et al. [2006], avaliaram a dose resposta do dentifrício e a remineralização do esmalte *in vitro*, para determinar a eficácia e compreender o modo de ação de dentifrícios com concentrações entre 0 e 3000 $\mu\text{g F/g}$. Após ciclagem de pH as lesões de esmalte foram avaliadas diariamente através da perda de cálcio. A perda de cálcio durante o período de desmineralização demonstrou a dose resposta, resultando em aproximadamente 65% de redução entre 0 e 1100 $\mu\text{g F/g}$ e 72% de redução quando utilizado o dentifrício com 3000 $\mu\text{g F/g}$ comparado ao 0 $\mu\text{g F/g}$.

Dentifrícios com alta concentração de fluoreto como 5000 $\mu\text{g F/g}$ [Baysan et al., 2001] e 3000 $\mu\text{g F/g}$ [Ten Cate et al., 2006] foram utilizados para reversão de cárie dentária. Estes foram significativamente melhores do que os dentifrícios normalmente comercializados com cerca de 1100 $\mu\text{g F/g}$, o que sugere que seu efeito possa ser similar em estudos envolvendo erosão dentária com conseqüente processo de desmineralização e remineralização [Magalhães et al., 2008; Rios et al., 2008]. Os dentifrícios de alta concentração ainda não fazem parte da rotina clínica, por apresentarem indicações específicas relacionadas normalmente com pacientes de alto risco a cárie, pacientes que utilizam aparelhos ortodônticos e ainda por apresentarem risco de intoxicações.

Uma outra medida que tem se mostrado efetiva [Takeshita et al., 2009] e que pode ser adotada para potencializar o efeito dos dentifrícios fluoretados é a adição de cálcio e fosfato. Os fosfatos de cálcio agem fornecendo íons cálcio e fosfato [Whitford et al., 2002], reduzindo a solubilidade do esmalte [Gonzáles 1971, Gonzáles et al., 1973], aumentando a capacidade tampão do biofilme [Bowen 1972], reduzindo a quantidade de biofilme [Nordbo e Rolla, 1972], modificando o metabolismo do biofilme através da elevação das concentrações de cálcio e fosfato [Duke et al., 1979] e potencializando a remineralização [Cury et al, 2003; Cury et al, 2005]. Dentre os vários sais de fosfato, o trimetafosfato de sódio (TMP) parece ser o mais ativo [Gonzáles, 1971; Gonzáles et al, 1973; Harris et al, 1967; Finn et al, 1978; Ingran et al, 1982; O'Mullane et al, 1997]. Estudos sugerem que o TMP atua reduzindo o processo de desmineralização [Henry e Navia, 1969].

No entanto, a literatura apresenta poucos trabalhos que relatam a efetividade dos dentifrícios com alta concentração de fluoreto e dentifrícios com baixa concentração de fluoreto suplementado com fosfato sobre a prevenção ou redução da lesão erosiva. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* a ação destes dentifrícios sobre a erosão associada ou não a abrasão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Narvai PC: Dental caries and fluorine: a twentieth century relation. *Ciência e Saúde Coletiva* 2000; 5: 381-392.

Imfeld T: Dental Erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci* 1996; 104:151-155.

Buratto EM, Andrade L, Rath IBS, Tames DR: Avaliação do potencial erosivo aos tecidos duros dentais de bebidas esportivas nacionais. *Revista ABO*, 2002; 10:109-112.

Moss SJ: Dental Erosion. *Int Dent J* 1998; 48:529-539.

Lussi, A. Jaeggi, T.;Zero, D: The role of diet in the etiology of dental erosion. *Caries Res* 2004; 38:34-44.

Sobral MAP, Luz MAAC, Gama-Teixeira A, Garone-Netto N: Influencia da dieta líquida ácida no desenvolvimento de erosão dental. *Pesq Odontol Bras* 2000; 14: 406-410.

Fushida, CE, Cury JA: Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de Coca-Cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo*. 1999; 3: 127-134.

Magalhães AC, Rios D, Buzalaf MAR in Buzalaf MAR: Fluoretos e Saúde Bucal. *Livraria Editora Santos* 2008, cap 9 : 221-240.

Attin T, Buchalla W, Gollner M, Hellwig E: Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. *Caries Res* 2000; .34: 48-52.

Rios D, Honorio, HM, Magalhães AC, Delbem ACB, Machado MAAM, Silva SMB, Buzalaf MAR: Effect of salivary stimulation on erosion of human and

bovine enamel subject or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. *Caries Res* 2006; 40:218-223.

Attin T, Knofel S, Buchalla W: In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of desmineralized enamel. *Caries Res* 2001; 35:216-22.

Al-Dlaigan YN, Shaw L, Smith AJ: Dental Erosion in a group of British 14-year-old, school children. Part III: Influence of Oral hygiene practises. *Brit. Dent J* 2002; 192:526-30.

Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM: Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J. Oral Rehab.*1999; 26:624-30.

Sorvari R, Meurman JH, Alakuijala P, Frank RM: Effect of fluoride varnish and solution on enamel erosion in vitro. *Caries Res*, 1994; 28:227-232.

Ganss C, Klimek J, Brune V, Schumann A: Effects of two fluoridation measures on erosion progression in enamel and dentine in situ. *Caries Res.* 1996; 38:561-566.

Bartlett DW, Smith BG, Wilson RF: Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on tooth wear in vitro and the influence of enamel fluoride concentration and hardness of enamel. *Brit Dent J.* 1994; 6: 346-348.

Ten Cate JM, Exterkate RAM, Buijs MJ: The Relative Efficacy of Fluoride Toothpastes Assessed with pH Cycling *Caries Res* 2006; 40: 136–141.

Bayasan A, Lynch E, Ellwood R, Davies R, Petersson L, Borsboom P: Reversal of Primary Root Caries Using dentifrices Containing 5000 and 1100 mgF/gluoride. *Caries Research.*, 2001; 35:41-46.

Magalhães, A.C. et al. Effect of Different Concentrations of Fluoride in Dentifrices on Dentin Erosion Subjected or Not to Abrasion in situ/ex vivo. *Caries Res.* 2008; 42: 112-116.

Rios D, Magalhães AC, Braga RO, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MAR: The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. *J Am Dent Assoc* 2009; 139:1652-1656.

Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem ACB: In vitro Evaluation of Dentifrice with Low Fluoride Content Supplemented with Trimetaphosphate. *Caries Res* 2009; 43:50-56.

Whitford GM, Wasdin JL, Schafer TE, Adair SM: Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. *Caries Res* 2002; 36:256-265.

Gonzalez M: Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization. *J Dent Res* 1971; 50:1056-1064.

Gonzalez M, Jeansonne BG, Feagin FF: Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. *J Dent Res* 1973; 52:261-266.

Bowen WE: The cariostatic effect of calcium glycerophosphate in monkeys. *Caries Res* 1972; 6:43-51.

Nordbo H, Rolla G: Desorption of salivary proteins from hydroxiapatite by phitic acid and glycerophosphate and the plaque-inhibition effect of the two compounds in vivo. *J Dent Res* 1972; 51:800-811.

Duke SA, Rees DA, Foward GC: Increased plaque calcium and phosphorus concentrations after using a calcium carbonate toothpaste containing calcium glicerophosphate and sodium monofluorophosphate. *Caries Res* 1979; 13:57-59.

Cury JA, Francisco SB, Simoes GS, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP: Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on enamel demineralization in situ. *Caries Res* 2003; 37: 194-199.

Cury JA, Simões GS, Del Bel Cury AA, Goncalves NC, Tabchoury CP: Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on in situ enamel remineralization. *Caries Res.* 2005; 39: 255-257.

Harris RS, Nizel AE, Walsh BN: The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. *J Dent Res* 1967;46:290-294.

Finn SB, Frew RA, Leibowitz, F, Morse W, Manson-Hing L, Brunelle, J: The effect of sodium trimetaphosphate (TMP) as a chewing gum additive on caries increments on children. *J Am Dent Assoc* 1978; 96: 651-655.

Ingram GS, Best JS: Studies on the anticaries action of sodium trimetaphosphate. *J Dent Res* 1982; 91:556.

O'Mullane DM, Kavanagh D, Ellwood RP, Chesters RK, Schafer F, Huntington E, Jones PR: A Three-year clinical trial of a combination of trimetaphosphate and sodium fluoride in silica toothpaste. *J Des Res* 1997; 76:1776-1781.

Henry CA, Navia JM: Sodium trimetaphosphate influence on the early development of rat caries and concurrent microbial changes. *Caries Res* 1969; 3:326-338.

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

M.J. Moretto^a

C.A.B. Delbem^a

K.T. Sasaki^b

A.C. Magalhães^c

C.C.R.Martinhon^a

^aDepartamento de Odontologia Social e Infantil, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista.

^b Departamento de Ciências Básicas, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista.

^cDepartamento de Ciências Biológicas, Disciplina de Bioquímica, Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

Título curto: Efeito dos dentifrícios sobre a erosão e abrasão.

Palavras- chave: erosão dentária, abrasão dentária, dentifrícios, esmalte dentário.

Correspondência:

Cleide Cristina Rodrigues Martinhon

Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista

Departamento de Odontologia Infantil e Social

Rua José Bonifácio, 1193

16015-050 – Araçatuba, São Paulo, Brasil.

Tel. + 55 18 3636 3235 Fax + 55 18 3636 3332

e-mail: cleidecristina@foa.unesp.br

(*ANEXO O)

Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* a ação de dentifrícios com alta e baixa concentração de fluoreto suplementado com trimetafosfato sobre a erosão associada ou não a abrasão. Foram utilizados 150 blocos de esmalte bovino que foram divididos em 5 grupos (n=30) de acordo com o dentifrício a ser utilizado e submetido ao desafio ácido com Sprite Zero[®] por 5 minutos 4 vezes ao dia durante 7 dias. Metade de cada grupo (n=15) recebeu imediatamente após cada desafio ácido tratamento com o *slurry* (1:3) e a outra metade foi submetida ao processo de abrasão através da escovação. Todos os blocos permaneceram em saliva artificial antes e após os tratamentos a 37°C. As médias da porcentagem de perda dureza da superfície e os valores médios do desgaste para os grupos submetidos à erosão foram de: placebo 82,26 % e 3,36 µm, 1100 µg F/g - Crest[™] 73,38% e 2,46 µm, 1100 µg F/g , 72,86% e 2,46 µm, 500 µg F/g TMP 3% 62,41% e 1,29 µm, 5000 µg F/g 64,06% e 1,46 µm. Já para os grupos submetidos à erosão associada à escovação foram de: placebo 76,63 % e 4,63 µm, 1100 µg F/g - Crest[™] 66,15% e 3,10 µm, 1100 µg F/g, 65,48% e 3,43 µm, 500 µg F/g TMP 3% 58,73% e 2,28 µm, 5000 µg F/g 60,37% e 2,18 µm. De acordo com os resultados do presente estudo, pode ser concluído que o uso dos dentifrícios 5000 µg F/g e 500 µg F/g suplementado com 3%TMP apresentou os melhores resultados quando aplicados sobre o esmalte dentário submetido a desafios ácidos com ou sem abrasão, entretanto, não foram capazes de inibir totalmente o desgaste pela erosão e erosão associada à abrasão.

Descritores: erosão dentária, abrasão dentária, dentifrícios, esmalte dentário

Introdução

A erosão dentária é definida como a perda da substância dentária por ácidos que não são de origem bacteriana, que podem ser de origem intrínseca e extrínseca. O fator extrínseco está tornando-se mais importante nos dias de hoje, através do aumento do consumo de bebidas ácidas como o refresco, bebidas esportivas, chás e sucos de fruta [Imfeld, 1996].

Alguns estudos demonstraram que a ação de bebidas ácidas, como os refrigerantes, torna o esmalte mais frágil e mais susceptível à perda de estrutura dentária, principalmente quando associada às forças mecânicas como a escovação [Attin et al., 2000; Attin et al., 2001; Imfeld et al. 1996; Jaeggi e Lussi, 1999]. Normalmente as pessoas escovam seus dentes após refeições que incluem o consumo de comidas e bebidas erosivas [Al-Dlaigan et al., 2002]. Este comportamento resulta em um aumento do desgaste mecânico do esmalte previamente atacado por agentes erosivos [Amaechi et al., 2003]. Por outro lado se houver a ação remineralizante por um determinado período de tempo o esmalte desmineralizado pela bebida torna-se mais resistente à escovação [Attin et al., 2000; Attin et al., 2001].

O flúor tem sido utilizado como medida preventiva complementar para a erosão dentária, e apresenta melhores efeitos quando aplicado em altas concentrações. [Sorvari et al., 1994]. Aplicações de agentes com alta concentração de fluoreto, como vernizes, soluções concentradas e géis têm demonstrado uma diminuição no desenvolvimento da erosão em esmalte [Ganss et. al., 1996]. No entanto alguns estudos demonstraram que os dentifícios fluoretados também poderiam aumentar a proteção do esmalte contra os desafios erosivos. [Barlett et al., 1994; Newby et al., 2006; Ten Cate et al., 2006], principalmente porque a escovação já é um hábito de higiene consolidado entre a população para prevenção da cárie dentária [Al-Dlaigan et al., 2002]. Entretanto, outros estudos concluíram que os dentifícios não seriam eficientes para tratamento da erosão e erosão associada à abrasão mesmo que a concentração de fluoreto fosse aumentada [Rios et al., 2008; Magalhães et al., 2008].

Os dentifrícios fluoretados podem contar com a suplementação de fosfato e/ou cálcio que seria um dos métodos para potencializar seu efeito no processo de remineralização. A presença destes íons na saliva ou biofilme funcionam como uma fonte adicional de fosfato otimizando o efeito do flúor. Alguns estudos demonstraram a atividade anticariogênica do fosfato [Harris et al., 1967; Gonzales, 1971; Larson et al, 1972; Gonzales et al., 1973; Städtler et al., 1996], entre eles, o trimetafosfato de sódio (TMP) parece ser o mais ativo [Harris et al., 1967]. Entretanto, o mecanismo da ação do fosfato ainda é desconhecido [Roberts, 1995].

O presente estudo teve como finalidade avaliar a influência dos dentifrícios fluoretados e suplementado com fosfato sobre a erosão e abrasão dentária do esmalte dentário bovino *in vitro*.

Materiais e Métodos

Delineamento experimental

Blocos de esmalte (4x4 mm, n=150) foram obtidos de dentes incisivos bovinos estocados em solução de formol neutro a 2% em temperatura ambiente. As superfícies do esmalte foram sequencialmente polidas (Anexos A B) e a seleção e alocação dos blocos nos grupos foi realizada pela média de dureza superficial. Foram alocados 30 blocos para cada um dos cinco grupos. Os grupos foram divididos em: placebo, 500 µg F/g TMP 3%, 1100 µg F/g (Crest®), 1100 µg F/g e 5000 µg F/g. Metade da superfície dos blocos de esmalte foi isolada com esmalte cosmético (Risqué -Niasi & Cia, SP, Brasil), para possibilitar a obtenção de parte controle essencial para a realização da perfilometria (Anexo C). Metade de cada grupo (n=15) foi submetida apenas à erosão e a outra metade (n=15) foi submetida à erosão associada à abrasão através da escovação realizada com escova elétrica. Os blocos foram mantidos em solução remineralizadora entre as trocas. Os blocos foram submetidos ao desafio ácido e ao tratamento durante sete dias com quatro trocas diárias (5 minutos em Sprite Zero®, pH 2,8, e ao tratamento, quatro vezes ao dia com *slurry* dos dentifrícios por 15 segundos). Ao término, determinou-se a SMHC

final da área tratada, para cálculo da porcentagem de variação da microdureza de superfície (%SMHC), e o desgaste através da perfilometria (μm).

Preparo e polimento dos blocos

Foi obtido de cada porção mais plana da coroa dental um bloco (4 x 4 mm), por meio da secção dupla no sentido cervico-incisal e no sentido mesio-distal. Os cortes foram realizados com auxílio de dois discos diamantados dupla face – XL 12205 (Extec Corporation, Enfield, CT, USA) e um espaçador de aço inoxidável 4mm entre os discos, refrigerado com água deionizada.

Para planificação os blocos foram fixados ao centro de discos acrílicos cristal (30 mm de diâmetro por 8 mm de espessura), com cera pegajosa (Kota Ind. e Com. Ltda, São Paulo – Brasil) o conjunto disco/dente foi adaptado em uma politriz metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia, São Paulo – Brasil) com refrigeração de água e o esmalte foi desgastado com lixas de silicone carbide de granulação 400, 600, 800 e 1200 (Carbimet Paper Discs, Buehler Ltda.). Para finalizar o polimento foi utilizado o feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618) umedecido com uma suspensão de diamante. Para impedir que os grãos das primeiras lixas interferissem na qualidade do polimento das seguintes, entre cada etapa de polimento, o conjunto dente/disco foi levado a um aparelho de ultra-som T7 Thornton (Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda., São Paulo – Brasil), com frequência de 40 kHz, durante 2 minutos, com água deionizada.

Formulação e dosagem de fluoreto e fosfato dos dentifrícios experimentais

Os dentifrícios foram manipulados no laboratório do Departamento de Odontologia Infantil e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. A concentração do fluoreto (NAF, Merck, Alemanha) nos dentifrícios foi de 0, 500, 1100 e 5000 $\mu\text{g F/g}$. O trimetafosfato de sódio (TMP, Sigma-Aldrich Co., EUA) foi adicionado no dentifrício de 500 $\mu\text{g F/g}$. Um dentifrício sem F e TMP (placebo) foi utilizado como controle negativo e o dentifrício comercial Crest™ foi utilizado como controle positivo. A determinação do flúor total (FT) e do flúor iônico (FI) foi realizada através do método descrito por

Delbem et al. [2002] (Anexo D) utilizando o eletrodo específico para o íon F (9609 BN – Orion Research Inc, Beverly, MA,USA) unido a um analisador de íon (Orion 720 A⁺ Orion Research Inc). Para a determinação do fosfato nos dentifrícios as amostras foram hidrolisadas adicionando-se o HCl 1 mol L⁻¹ e aquecendo-se a uma temperatura pouco abaixo do ponto de ebulição. O fosfato total foi medido de acordo com a análise calorimétrica [Fiske e Subbarow, 1925] com a utilização do espectrofotômetro (HITACHI U-2000) (Anexo E)

Desafio erosivo e tratamento

Os blocos foram submetidos durante sete dias [West et al 1999] a quatro imersões por dia em Sprite zero com pH 2,9 [Attin et al., 2001], à temperatura ambiente durante cinco minutos [Hughes et al., 1999; Hughes et al., 2002, Hunter et al., 2003; West, 1998], 10 mL por bloco. Imediatamente após o desafio erosivo, os blocos receberam o tratamento proposto (Anexo F) que foi realizado com dentifrícios (placebo, Crest[®] 1100 µg F/g 500 µg F/g 3%TMP, 1100 µg F/g e 5000 µg F/g). Os blocos foram submersos em *slurry* de dentifrício (1:3 diluídos peso:peso em água deionizada, 10 ml por bloco) durante quinze segundos em todos os grupos (erosão e erosão + abrasão), entretanto nos blocos submetidos à abrasão estes foram escovados submersos com a escova elétrica Colgate motion[®] (Colgate-Palmolive Company[®], São Paulo SP, 167 rotações por minuto) por 15 segundos [Voronets et al., 2007] ou aproximadamente 40 rotações [Attin et al., 1998]. Após o tratamento os blocos retornaram para a saliva artificial (H₂O deionizada, Ca (NO₃)₂.4H₂O, KCl, NaH₂PO₄* H₂O, Trís H₂NC(CH₂OH)₃) e fluoreto padrão Orion 0,07 ppm) à temperatura de 37° C, sem agitação, e em média 10 mL por bloco, sendo trocada diariamente (Anexo G e H).

Microdureza inicial e final

Para determinação da microdureza superficial (SMH), utilizou-se um microdurômetro (HMV- 2000/ Shimadzu Corporation, Japan. Faculdade de Odontologia de Araçatuba - SP) acoplado a um microcomputador e um software específico para análise das imagens (Cams-Win-New Age Industries/ USA) (Anexo I). Utilizou-se carga estática de 25g por 10 segundos e foram realizadas 5 marcações aleatórias em cada bloco, assim estes foram selecionados e divididos, de acordo com a média da microdureza do total de blocos e seu intervalo de confiança ($p < 0,05$) em 5 grupos experimentais de 30 espécimes cada (Anexo D e J). Ao término do experimento, determinou-se a SMHC final da área tratada, para cálculo da porcentagem de variação da microdureza de superfície (%SMHC) realizando-se 5 marcações aleatórias na região que recebeu o tratamento (Anexo J e K).

Determinação do desgaste superficial

Ao término dos ciclos foi removido cuidadosamente o esmalte cosmético dos blocos para que fosse determinado o do desgaste superficial através do Rugosímetro Hommel Tester T 1000 (Hommelwerke, Gmbh, Alte Tuttinger Strebe 20. D-7730 VS-Schwenningen) (Anexo L).. Com uma ponta apalpadora esférica, acoplada a uma unidade que teve como função processar as informações quantitativamente, fornecendo os resultados (Anexos M e N).

O rugosímetro foi conectado a um microcomputador que processou e armazenou as informações pertinentes aos ensaios com o auxílio de um software específico do equipamento (Turbo Datawin-NT Version 1.34, Copyright 2001). A ponta do rugosímetro percorreu a superfície hígida dos espécimes para a área afetada. Assim sendo, após a determinação do perfil, a medida do desgaste foi obtida pela distância em micrometros entre a linha média do gráfico correspondente à área protegida do espécime e o pico de desgaste. Para cada espécime foram feitas 5 medições em diferentes áreas da interface entre o esmalte hígido e o desgastado e a média foi calculada em micrometros.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o programa Graph Pad Prism Versão 3.0 para Windows (Software Graph Pad; San Diego, Califórnia, EUA) com limite de significância de 5%. A análise estatística foi aplicada considerando como fatores de variação os dentifrícios experimentais (placebo, 1100 µgF/g Crest[®], 1100 µgF/g, 500 µgF/g TMP 3% e 5000 µgF/g) e o tipo de desafio erosivo (erosão e erosão/abrasão), e como variáveis os valores de dureza de superfície antes dos desafios, porcentagem de perda de dureza de superfície (%SMHC) e desgaste da superfície do esmalte (µm). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade, Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente. Os dados mostraram-se homogêneos e foram submetidos a Análise de Variância pelo teste de Tukey. A comparação entre os desafios erosivos e erosivos e abrasivos, para cada dentifrício experimental, considerando as variáveis %SMHC e desgaste da superfície, foi realizada através do teste *t* não-emparelhado.

Resultados

<TABELA 1>

As concentrações médias (média ± dp) de fluoreto, fosfato e o pH dos dentifrícios testados se encontram na Tabela 1. A média (± dp) da dureza de superfície antes do desafio erosivo e/ou abrasivo do esmalte tratado com os dentifrícios experimentais foi de 354,1 ± 8,2 KHN (intervalo de confiança 95%).

<FIGURA 1>

A Figura 1 mostra que a porcentagem de perda dureza de superfície foi menor para os grupos que foram tratados com os dentifrícios de 5000 µg F/g (-64,06 ± 3,51) e 500 µg F/g TMP 3% (-62,41 ± 3,91) submetidos à erosão e os grupos tratados com 1100 µg F/g Crest[®] e 1100 µg F/g foram menores que o tratado com o dentifrício placebo (p<0,05). A mesma relação foi observada entre os grupos quando a erosão foi associada à abrasão (-60,37 ± 4,85 e -58,73 ± 2,50, respectivamente) (Figura 2). Quando foi comparada a

porcentagem de perda mineral entre os desafios (erosão e erosão + abrasão), para cada tratamento com dentifrício, verificou-se que houve menor perda ($p < 0,05$) quando a erosão foi associada à abrasão.

<FIGURA 2>

<FIGURA 3>

De acordo com a Figura 3 o menor desgaste de superfície ocorreu para os grupos tratados com os dentifrícios 5000 $\mu\text{g F/g}$ ($1,46 \pm 0,25$) e 500 $\mu\text{g F/g}$ TMP 3% ($1,29 \pm 0,15$) submetidos à erosão e os grupos tratados com 1100 $\mu\text{g F/g}$ Crest[®] e 1100 $\mu\text{g F/g}$ foram menores que o tratado com o dentifrício placebo ($p < 0,05$). A mesma relação foi observada entre os grupos quando a erosão foi associada à abrasão ($2,18 \pm 0,30$ e $2,28 \pm 0,26$, respectivamente) (Figura 4). Quando foi comparado o desgaste entre os tipos de desafios (erosão e erosão + abrasão), para cada tratamento com dentifrício, verificou-se que houve menor desgaste ($p < 0,05$) quando foi realizada somente a erosão.

<FIGURA 4>

Discussão

O fluoreto quando utilizado por meio de aplicações tópicas de vernizes, géis e com soluções concentradas têm demonstrado uma diminuição do desenvolvimento da erosão em esmalte [Ganss et al., 1996]. No entanto, praticamente não existem trabalhos que utilizam o dentifrício com 5000 $\mu\text{g/g F}$ para prevenção da erosão e/ou associada à abrasão dentária, por isso, neste estudo comparou-se o dentifrício com alta concentração de fluoreto (5000 $\mu\text{g/g F}$) com dentifrícios de 1100 $\mu\text{g F/g}$, 1100 $\mu\text{g F/g}$ (Crest[®]), 500 $\mu\text{g F/g}$ suplementado com TMP a 3% e placebo, e verificou-se que o dentifrício de alta concentração (5000 $\mu\text{g F/g}$) mostrou-se eficaz na redução da desmineralização e desgaste da superfície do esmalte previamente erodido e/ou abrasado quando comparado com 1100 $\mu\text{g F/g}$ e placebo.

Muito provavelmente o efeito protetor dos dentifrícios fluoretados não seja alcançado em estudos como esse, devido ao constante contato com agente erosivo e a remoção do fluoreto de cálcio aderido à superfície de esmalte. O papel do fluoreto para prevenção do fenômeno erosivo ainda não foi totalmente esclarecido, se considerarmos o fato de que o pH dos refrigerantes é inferior a quatro, nem o fluoreto incorporado ao dente, nem o presente no meio, afetariam o grau de subsaturação da solução com relação aos tecidos dentais [Fushida e Cury, 1999]. Porém neste estudo observou-se que o uso de dentifrícios fluoretados pode reduzir os valores de perda de estrutura mineral significativamente, aumentando a proteção do esmalte contra os desafios erosivos [Barlett et al., 1994; Newby et al., 2006; Ten Cate et al., 2006; Vieira et al 2007]. No entanto, o dentifrício não é capaz de inibir por completo o processo de erosão ou mesmo promover o reparo das lesões já estabelecidas. Lussi et al. [2008] e Magalhães et al. [2008] mostraram que nenhum dos dentifrícios testados em diferentes concentrações apresentou significância estatística, porém houve uma tendência para um melhor efeito quando ao dentifrício de alta concentração (5000 µg F/g) foi empregado quando comparado ao dentifrício de 1100 µg F/g [Rios et al., 2008].

Uma outra alternativa para melhorar o efeito do dentifrício fluoretado e minimizar o risco de intoxicação aguda e crônica seria a adição do trimetafosfato de sódio (TMP) em dentifrício de baixa concentração (500 µg F/g) com o intuito de que este funcionasse como uma fonte adicional de fosfato otimizando assim o efeito do fluoreto [Takeshita et al., 2009]. Entre as fontes de fosfato estudadas, o trimetafosfato de sódio (TMP) parece ser o mais ativo [Harris et al., 1967; Gonzales, 1971; Larson et al, 1972; Gonzales et al., 1973; Städtler et al., 1996], mas o mecanismo de ação do fosfato ainda permanece desconhecido [Roberts, 1995]. De acordo com os resultados do presente estudo verificou-se que o dentifrício 500 µg F/g suplementado com TMP a 3% mostrou-se efetivo quanto à prevenção e/ou redução da perda mineral e desgaste quando comparado com os demais dentifrícios testados submetidos ou não a abrasão. Seu efeito foi comparado ao dentifrício com alta concentração de fluoreto 5000 µg F/g, mostrando que não houve diferença estatística entre eles. Em estudo prévio foi demonstrado que a adição do TMP a 3% em dentifrício de baixa concentração de fluoreto (500 µg F/g) foi possível

aumentar a quantidade de fluoreto, cálcio e fosfato presente no esmalte dentário quando comparado a um dentifrício com 1100 µg F/g em um estudo de ciclagem de pH [Takeshita et al., 2009]. De certa forma isto pode contribuir para o efeito do dentifrício 500 µg F/g suplementado com TMP a 3% na erosão e erosão associada à abrasão.

Neste estudo a ação erosiva do refrigerante provocou uma desmineralização da superfície [Amaechi e Higham, 2001; Eisenburger et al., 2000; Hughes et al 2002], resultando em uma maior porcentagem de perda de dureza e um menor desgaste superficial nos grupos submetidos apenas a erosão. Entretanto, quando a erosão foi associada à escovação, a ação erosiva promoveu a desmineralização da superfície do esmalte tornando -a mais frágil e com a ação da escovação essa superfície foi removida, expondo uma área mais endurecida, justificando os resultados antagônicos nos testes de microdureza e de perfilometria.

O hábito de higiene pré-estabelecido onde as pessoas escovam seus dentes imediatamente após refeições é um grande problema quando nos referimos à erosão [Al-Dlaigan, 2002]. No entanto, este comportamento resulta em um aumento do desgaste mecânico do esmalte previamente atacado por agentes erosivos [Amaechi et al., 2003]. Por outro lado se houver a ação remineralizante por um determinado período de tempo o esmalte desmineralizado torna-se mais resistente à escovação [Attin et al. 2000, Attin et al., 2001]. Alguns estudos demonstraram que a ação de bebidas ácidas, como os refrigerantes e sucos, tornam o esmalte mais frágil e mais susceptível à perda de estrutura por forças mecânicas como a escovação [Attin et al., 2000, Attin et al. 2001, Imfield et al., 1996]. Em nosso estudo os grupos que foram submetidos à erosão e imediatamente escovados e estes apresentaram maior desgaste superficial [Magalhães et al., 2008] mesmo tendo uma maior dureza superficial decorrente da remoção mecânica pela escovação da camada de esmalte mais amolecida [Amaechi et al., 2003]. Portanto, a escovação posterior ao ataque erosivo faz com que o esmalte se torne mais suscetível ao desgaste e até mesmo os dentifrícios fluoretados e suplementados não impedem o desgaste, muito embora seria uma medida extremamente eficaz devido a sua abrangência.

De acordo com os resultados do presente estudo, pode ser concluído que o uso de dentifício fluoretado 5000 $\mu\text{g F/g}$ e dentifício 500 $\mu\text{g F/g}$ suplementado com TMP a 3% apresentaram maior efeito protetor sobre o esmalte dentário submetido a desafios ácidos com ou sem escovação, mas não foram capazes de inibir totalmente o desgaste por estas condições.

Referências Bibliográficas

Imfeld T: Dental Erosion. Definition, classification and links. Eur J Oral Sci 1996; 104:151-155.

Attin T, Buchalla W, Golinier M, Hellwig E: Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. Caries Res 2000; 34: 48-52.

Attin T, Knöfel S, Buchalla W: In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of desmineralized enamel. Caries Res 2001; 35:216-222.

Jaeggi T, Lussi A: Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intraoral exposure to saliva: an in situ study. Caries Res 1999; 33: 455-461.

Al-Dlaigan YH, Shaw L, Smith AJ: Dental erosion in a group of British 14-year-old, school children. Part III: Influence of Oral hygiene practices. British Dent J 2002; 192: 526-530.

Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM: Influence of abrasion in clinical manifestation of human dental erosion. J Oral Rehab 2003; 30: 407-13.

Sorvari, R; Pelttari, A; Meurman, JH: Surface ultrastructure of rat molar teeth after experimentally induced erosion and attrition. Caries Res 1996; 30: 163-168.

Ganss C, Klimek J, Brune V, Schumann A: Effects of two fluoridation measures on erosion progression in enamel and dentine in situ. Caries Res, 1996; 38:561-566.

Bartlett DW, Smith BG, Wilson RF: Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on tooth wear in vitro and the influence of enamel fluoride concentration and hardness of enamel. Brit Dent J 1994; 6: 346-348.

Newby CS, Creeth JE, Rees GD, Schemehorn BR: Surface microhardness changes, enamel fluoride uptake, and fluoride availability from commercial toothpastes. *J Clin Dent* 2006; 17:94-99.

Ten Cate J.M; Exterkate R.A.M.; Buijs M.J: The Relative Efficacy of Fluoride Toothpastes Assessed with pH Cycling *Caries Res* 2006; 40:136–141.

Harris RS, Nizel AE, Walsh BN: The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. *J Dent Res* 1967; 46: 290-294.

Gonzalez M: Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization. *J Dent Res* 1971; 50:1056-1064.

Larson RH, Spalter CD, Clemmer BA, Scherp HW: Continuous versus intermittent feedings of different levels of trimetaphosphate in relation to caries development in the rat. *Arch Oral Biol* 1972; 17:1537-1541.

Gonzalez M; Jeansonne B.G.; Feagin F.F: Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. *J Dent Res*. 1973; 52: 261-266.

Ständtler P, Müller-Bruckschwaiger K, Schäfer F, Huntington E: The effect of sodium trimetaphosphate on caries: a 3-year clinical toothpaste trial. *Caries Res* 1996; 30: 418-422.

Harris R.S, Nizel AE, Walsh BN: The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. *J Dent Res* 1967; 46: 290-294.

Roberts A.J: Role of models in assessing new agents for caries prevention—nonfluoride systems. *Adv Dent Res* 1995; 9: 304-311.

Delbem ACB, Vieira AEM, Cury JA: Avaliação do potencial cariostático do dentifrício brasileiro de maior participação no mercado. *Rev Bras Odontol* 2002; 59:14-18.

Fiske CH, Subbarow Y: The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem*, 1925; 66: 375-400.

Hughes JA, West NX, Parker DM, Newcombe RG Addy M: Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink in vitro and in situ. 1. Comparison eith orange juice. *J.Dent.* 1999; 27: 285-289.

Hughes JA, Jandt KD, Baker N, Parker DM, Newcombe RG, Eisenburger M, Addy M: Further modification to soft drinks to minimize erosion. A study in situ. *Caries Res.* 2002; 36: 70-74.

Hunter MI, Hughes JA, Parker DM, West NX, Newcombe RG, Addy M: Development of low erosive carbonated fruit drinks. 1. Evaluation of two experimental orange drinks in vitro and in situ. *J Dent* 2003; 31: 253-260.

West, NX, Maxwell A, Hughes JA, Parker DM, Newcombe RG, Addy M: A method to measure clinical erosion: The effect of orange juice consumption on erosion of enamel. *J. Dent.* 1998; 26: 329-335.

Voronets J, Jaeggi T, Buergin W, Lussi A: Controlled toothbrush abrasion of softened human enamel. *Caries Res.* 2008; 42: 286-290.

Attin T, Zirkel C, Hellwig G: Brushing abrasion of eroded dentin after application of sodium fluoride solutions. *Caries Res.* 1998; 32: 344-50.

Fushida CE, Cury JA: Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de Coca-Cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo.* 1999; 3:127-134.

Vieira A, Jager DHJ, Ruben L, Huysmans MCDNJM: Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. *Caries Res.* 2007; 41: 61-67.

Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T: Impact of different toothpastes on the prevention of erosion. *Caries Res* 2008; 42: 62-67.

Magalhães, A.C. et al. Effect of Different Concentrations of Fluoride in Dentifrices on Dentin Erosion Subjected or Not to Abrasion in situ/ex vivo. *Caries Res.* 2008; 42: 112-116.

Rios D, Magalhães AC, Braga RO, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MAR: The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. *J Am Dent Assoc* 2008; 139:1652-1656.

Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem ACB: In vitro Evaluation of Dentifrice with Low Fluoride Content Supplemented with Trimetaphosphate. *Caries Res* 2009; 43:50-56.

Amaechi BT, Higham SM: Eroded enamel lesion remineralization by saliva as a possible factor in the site-specificity of human dental erosion. *Arch Oral Biol* 2001; 46: 697-703.

Eisenburger M, Hughes J, West MX, Jandt KD, Addy M: Ultrasonication as a method to study enamel demineralisation during acid erosion. *Caries Res.* 2000; 34: 289-294.

Legenda de Tabelas

Tabela 1 – Concentração média (\pm dp, n=3) de fluoreto (F) e fosfato (P), total (T) e iônico (I), e pH dos dentifrícios experimentais testados

Legenda de Figuras

Figura 1 - Porcentagem de perda dureza de superfície (\pm ep, n=15) entre os grupos submetidos à erosão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,05$).

Figura 2- Porcentagem de perda dureza de superfície (\pm ep, n=15) entre os grupos submetidos à erosão associada à abrasão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,05$).

Figura 3 – Valores médios (\pm ep, n=15) do desgaste (μ m) entre os grupos submetidos à erosão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,05$).

Figura 4 – Valores médios (\pm ep, n=15) do desgaste (μ m) entre os grupos submetidos à erosão associada à abrasão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,05$).

Tabela 1 – Concentração média (\pm dp, n=3) de fluoreto (F) e fosfato (P), total (T) e iônico (I), e pH dos dentifrícios experimentais testados

Dentifrícios	Fosfato ($\mu\text{g/g}$)		Fluoreto ($\mu\text{g/g}$)		pH
	PT	PI	FI	FT	
PLACEBO	100,45 \pm 4,44	67,75 \pm 13,81	17,9 \pm 1,89	17,3 \pm 1,62	8,00
CREST™	2029,27 \pm 49,46	1951,34 \pm 42,99	1069,9 \pm 25,76	1090,3 \pm 15,95	7,03
1100 μg F/g	117,59 \pm 37,77	67,32 \pm 6,21	1179,0 \pm 19,22	1191,4 \pm 22,57	8,00
500 μg F/g TMP 3%	9214,10 \pm 87,44	316,20 \pm 7,04	487,3 \pm 21,18	499,6 \pm 17,26	6,97
5000 μg F/g	117,34 \pm 14,52	60,22 \pm 2,64	5212,59 \pm 79,43	5380,43 \pm 82,73	7,75

Figura 1 - Porcentagem de perda dureza de superfície (\pm ep, n=15) entre os grupos submetidos à erosão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,05$).

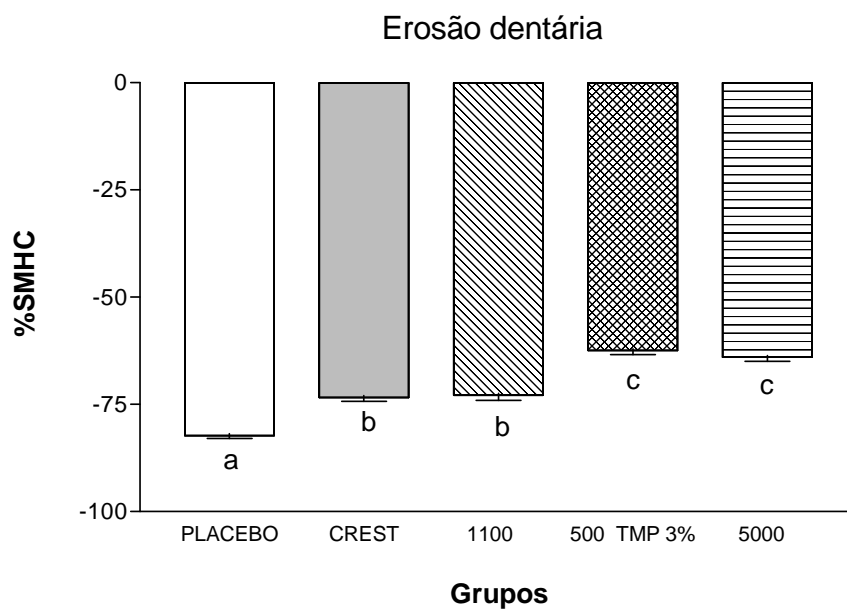


Figura 2 - Porcentagem de perda dureza de superfície (\pm ep, n=15) entre os grupos submetidos à erosão associada à abrasão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,05$).

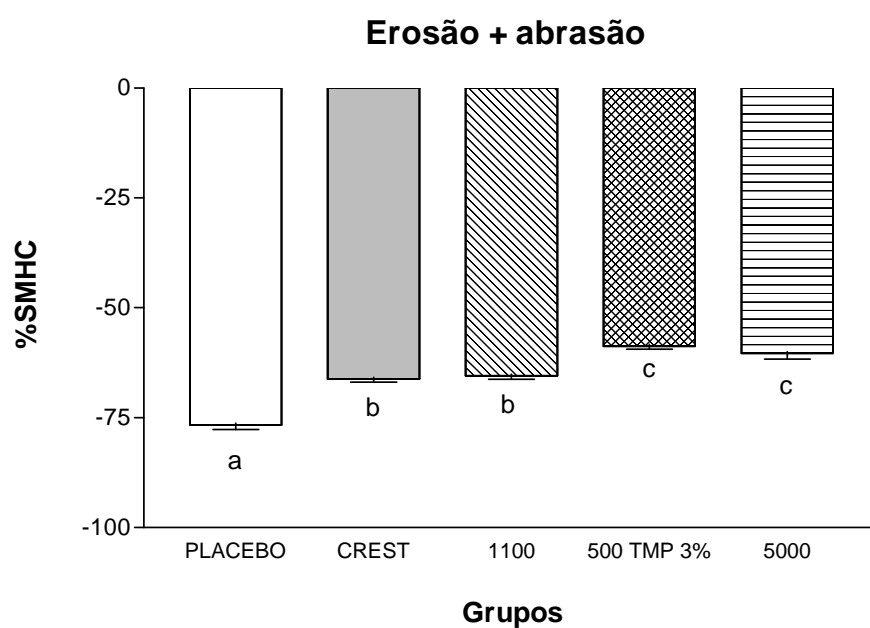


Figura 3 – Valores médios (\pm ep, n=15) do desgaste (μ m) entre os grupos submetidos à erosão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,05$).

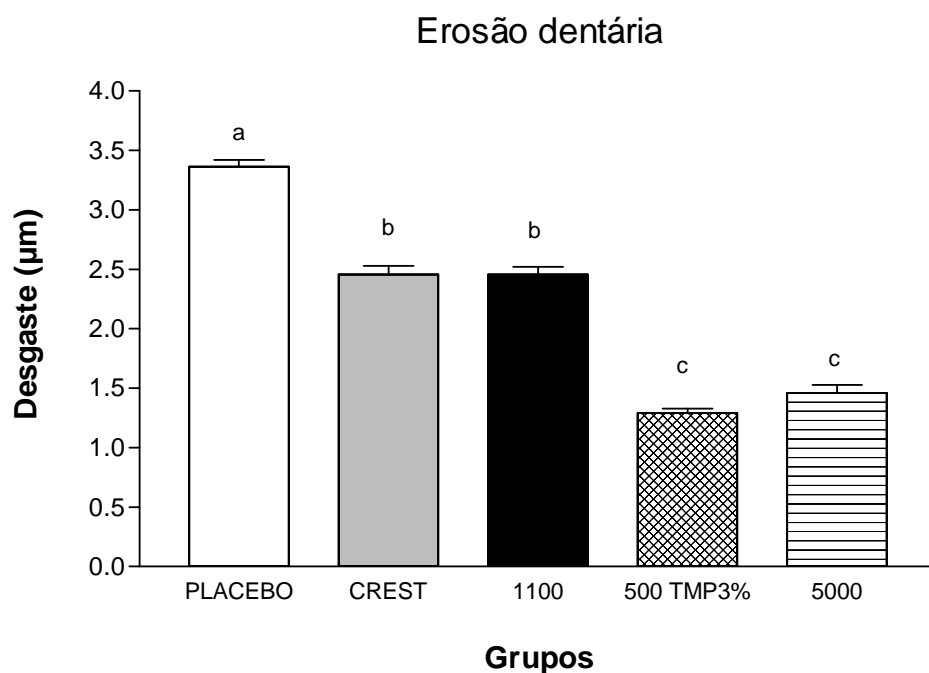
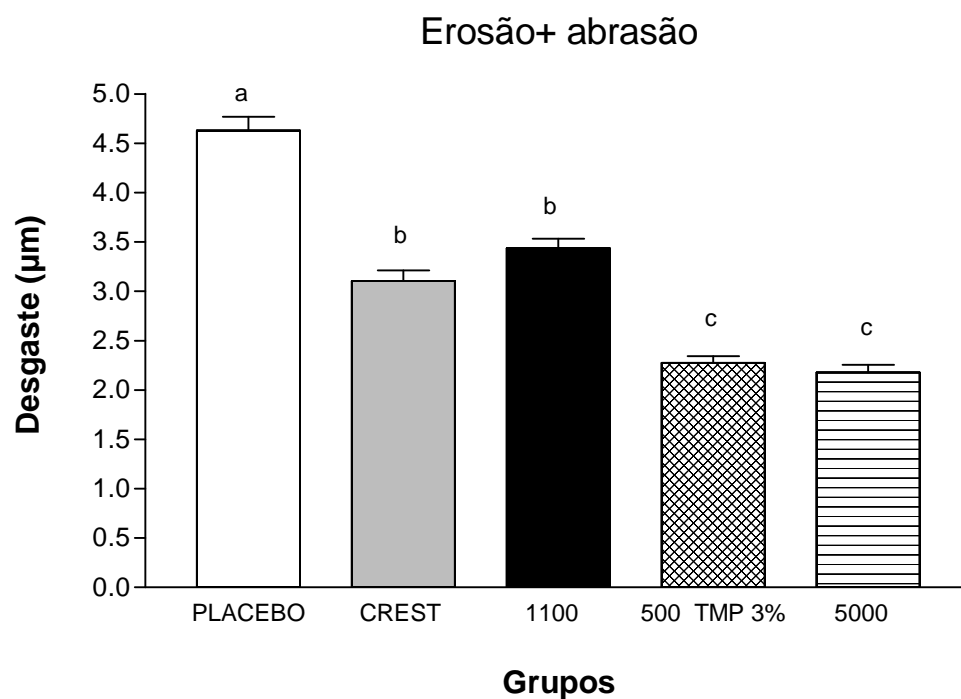


Figura 4 – Valores médios (\pm ep, n=15) do desgaste (μ m) entre os grupos submetidos à erosão associada à abrasão. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa (ANOVA, $p < 0,05$).



Anexos

Anexo A

PREPARO E SELEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

- confecção dos blocos de esmalte bovino (4 x 4 mm) -



1. 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).



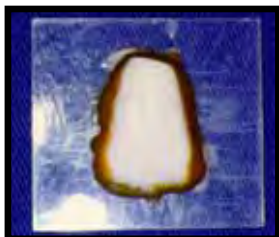
2. Coroa dentária fixada em placa de acrílico (4x4 cm e 4 mm de espessura) com cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA) pela sua face proximal.



3. Placa montada em cortadeira (Isomet Low Speed Saw – Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) sob refrigeração com água destilada/deionizada.



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



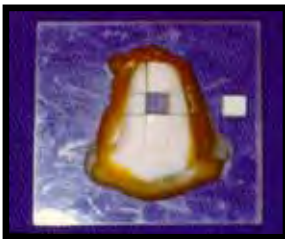
5. Face vestibular fixada na placa de acrílico.



6. 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.



7. Secção da face vestibular no sentido transversal, 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.



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

Anexo B

PREPARO E SELEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Planificação da dentina e polimento do esmalte



1. 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.

2. Ajuste da dentina para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina, utilizando Politriz APL-4 AROTEC e lixas de granulação 320 (CARBIMET Paper Discs, 30-5108-320, BUEHLER), 2 pesos, durante 20 segundos sob baixa rotação e refrigeração.



3. Blocos fixados com a superfície do esmalte voltada para cima, a qual será polida, e lixas de granulação 400, 600, 800 e 1200 (CARBIMET Paper Discs, BUEHLER)

Seqüência do polimento de esmalte:

1. Pedra-pomes, água deionizada e taça de borracha montada em contra-ângulo em baixa-rotação.
2. Na Politriz APL-4 AROTEC - lixa de granulação 400, 600, 800 e 1200 (2 minutos – 2 pesos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água deionizada por 2 minutos, entre cada lixa;
3. Na Politriz APL-4 AROTEC - acabamento final com disco de papel feltro TEXMET 1000 (Buehler Polishing Cloth) (2 minutos – 2 pesos) e suspensão de alumina 1 micron base-água);
4. Limpeza em lavadora ultrassônica em água deionizada (2 minutos);
5. Lavagem durante 30 segundos com jato de água deionizada.

Anexo C

PROTEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE



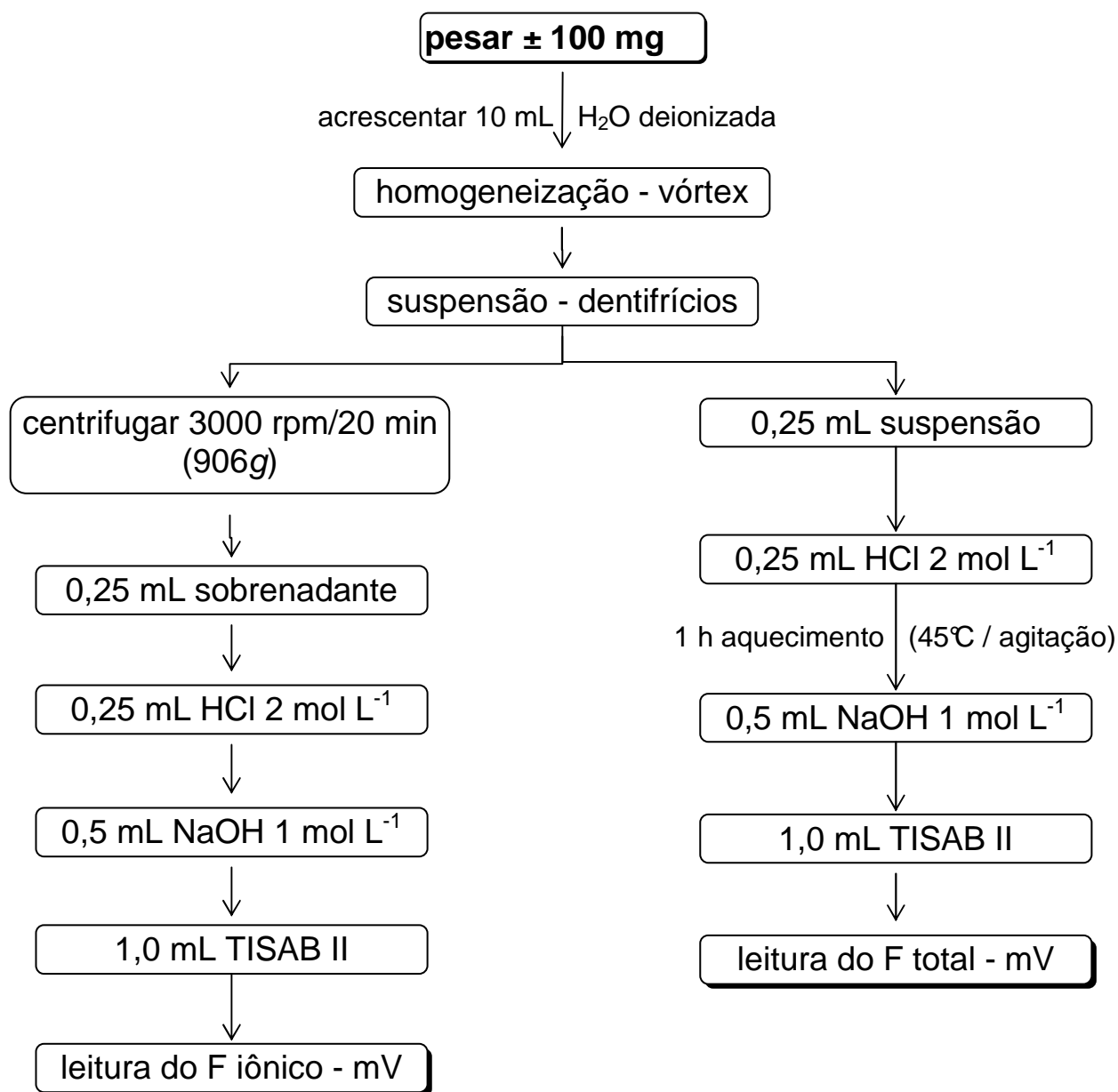
1. Seleção prévia dos blocos realizada através de microdureza e observação a olho nu da superfície de cada bloco.

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



Anexo D

DOSAGEM DE F NOS DENTIFRÍCIOS**



** Delbem ACB, Vieira AEM, Cury, JA. Avaliação do potencial cariostático do dentifrício brasileiro de maior participação no mercado. Rev Bras Odontol 2002; 59:14-18

Anexo E

Dosagem de fosfato dos dentifrícios experimentais

A dosagem de P foi realizada conforme descrito por Fiske & Subbarow (1925), empregando os seguintes reagentes:

1 – Reativo Redutor: Ácido alfa amino naftol sulfônico (AANS): 0,2 g + Sulfeto de sódio: 1,2g + dissulfito de sódio: 1,2 g. A mistura foi triturada em gral e armazenada em frasco escuro. Na hora da análise, cada 0,025 g da mistura foi dissolvida em 1,0 mL de água deionizada.

2 – Ácido Molibdico: Molibdato de amônio: 6,52 g + ácido sulfúrico concentrado: 27,0 mL.

3 – Padrão contendo 3mg% P

A reação foi realizada de acordo com a tabela abaixo:

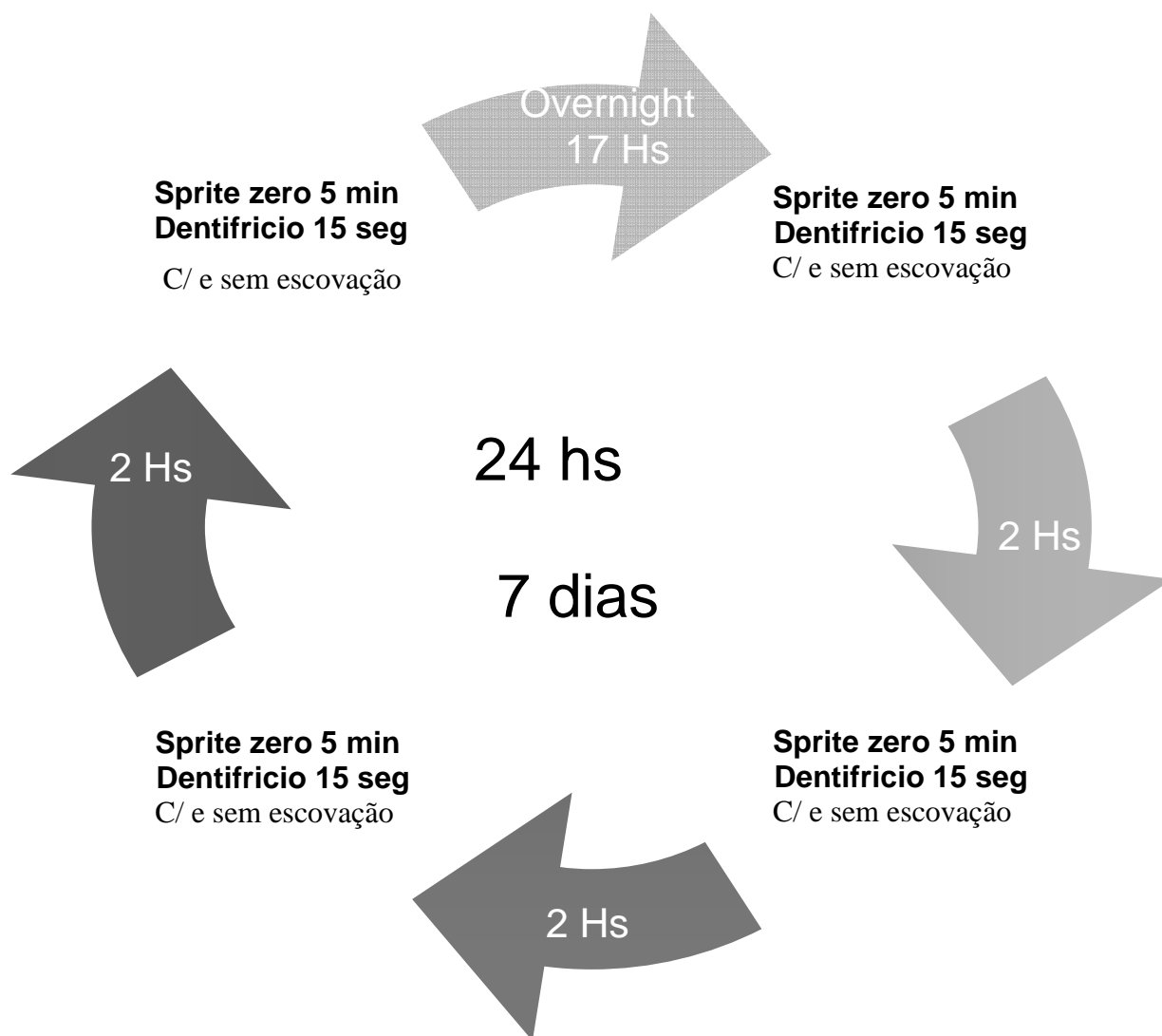
Tabela – Dosagem de fosfato de acordo com o método de Fiske & Subbarow (1925)

	Blanck	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Amostra
Água deionizada	2,3 mL	2,2 mL	2,1mL	1,9 mL	1,5 mL	2,2 mL
Padrão P 3mg%	-	0,1 mL	0,2 mL	0,4 mL	0,8 mL	-
Amostra	-	-	-	-	-	0,1 mL
Ácido Molibdico	0,5 mL em todos, agitar e esperar 10 minutos					
Reativo Redutor	0,2 mL em todos, agitar imediatamente, esperar 20 minutos e ler a 660 nm					
µg P / mL	0	3	6	12	24	-

Inicialmente foi colocada água deionizada nos tubos de ensaio de acordo com os volumes descritos na tabela acima. A seguir foram colocados em duplicatas, os padrões de P ou as amostras. Então foram colocados 0,5 mL de ácido molibdico em todos os tubos, agitou-se e esperou-se 10 min. A coloração da reação foi desenvolvida pela adição de reativo redutor. Após 20 min da colocação do reativo redutor realizou-se a leitura em espectrofotômetro (Cary 50) a 660 nm de absorbância.

Anexo F

ESQUEMA DESAFIO ÁCIDO E TRATAMENTO

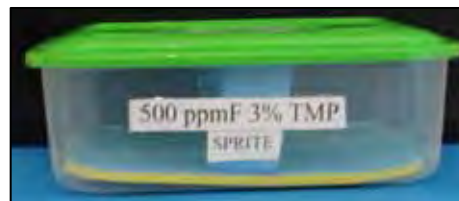
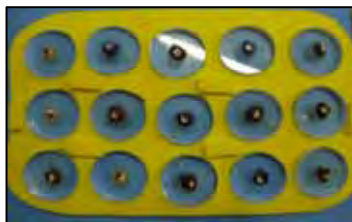


Anexo G

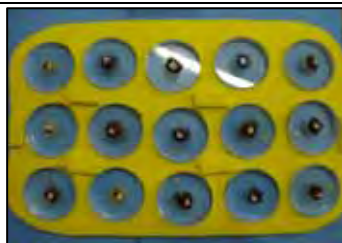
SEQUÊNCIA EROSÃO



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 15 blocos, colocado em recipiente próprio com solução remineralizadora em intervalos de 2 horas.



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 15 blocos, colocado em recipiente com sprite zero[®] durante 5 minutos.



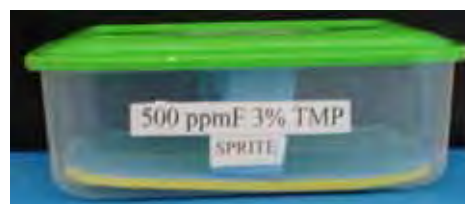
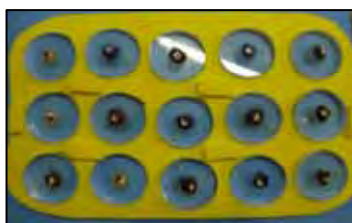
Dispositivo em E.V.A. , com capacidade para 15 blocos, colocado em recipiente com slurry de dentifrício (1:3) durante 15 segundos.

Anexo H

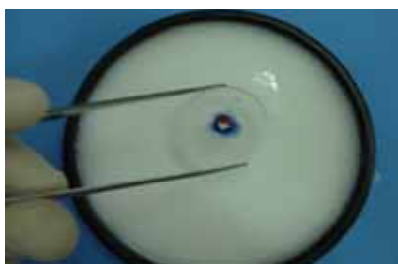
SEQUÊNCIA ABRASÃO



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 15 blocos, colocado em recipiente próprio com solução remineralizadora em intervalos de 2 horas.



Dispositivo em E.V.A., com capacidade para 15 blocos, colocado em recipiente com sprite zero[®] durante 5 minutos.



Escovação dos blocos submersos em dentífrico por 15 segundos, com escova elétrica.

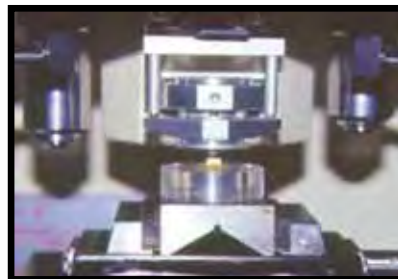
Anexo I

AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA

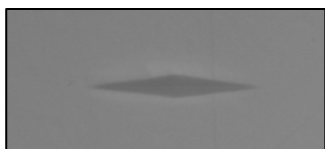


1. Microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation - Kyoto-Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem CAMS-WIN (NewAge Industries, USA).

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



Inicial



Final



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

Anexo J

Microdureza Inicial

GRUPO EROSÃO							
Placebo							
1	338	337	342	344	345	341,2	3,56
2	349	351	346	347	340	346,6	4,16
3	347	340	355	344	340	345,2	6,22
4	338	359	343	343	357	348	9,38
5	344	359	358	356	361	355,6	6,73
6	364	363	344	349	349	353,8	9,09
7	359	368	361	359	359	361,2	3,90
8	363	355	368	346	349	356,2	9,26
9	351	359	368	368	359	361	7,18
10	342	364	359	360	359	356,8	8,53
11	360	362	353	372	359	361,2	6,91
12	373	365	364	377	373	370,4	5,64
13	373	370	370	365	364	368,4	3,78
14	367	376	370	368	369	370	3,54
15	373	368	372	358	362	366,6	6,47
Média						357,48	
dp						9,29	

1100 µg F/g Crest™							
31	336	337	345	340	347	341	4,85
32	338	342	345	344	334	340,6	4,56
33	336	355	344	350	340	345	7,62
34	352	351	362	350	349	352,8	5,26
35	351	359	359	351	342	352,4	7,06
36	351	355	351	368	351	355,2	7,36
37	365	366	356	363	370	364	5,15
38	369	368	368	370	356	366,2	5,76
39	370	364	359	361	364	363,6	4,16
40	364	355	364	368	351	360,4	7,09
41	366	367	370	359	362	364,8	4,32
42	370	370	365	365	351	364,2	7,79
43	373	370	368	359	373	368,6	5,77
44	372	366	370	360	370	367,6	4,77
45	367	368	360	370	370	367	4,12
média						358,23	
dp						9,77	

1100 µg F/g							
46	347	350	350	347	352	349,2	2,17
47	340	341	343	341	343	341,6	1,34
48	359	364	355	355	356	357,8	3,83
49	364	364	368	362	355	362,6	4,77
50	359	359	355	359	342	354,8	7,36
51	346	342	338	340	340	341,2	3,03
52	369	369	373	371	371	370,6	1,67
53	368	368	371	364	368	367,8	2,49

54	364	362	364	360	359	361,8	2,28
55	351	349	353	349	345	349,4	2,97
56	339	339	343	341	343	341	2,00
57	346	359	359	359	361	356,8	6,10
58	365	368	368	366	373	368	3,08
59	347	352	347	349	347	348,4	2,19
60	343	345	347	349	345	345,8	2,28
média						354,45	
dp						10,16	

500 µg F/g 0 TMP 3%							
16	340	333	342	341	345	340,2	4,44
17	335	343	350	339	342	341,8	5,54
18	347	344	340	349	345	345	3,39
19	350	351	349	345	350	349	2,35
20	346	350	355	342	355	349,6	5,68
21	343	352	366	352	361	354,8	8,93
22	366	366	368	368	350	363,6	7,67
23	373	364	356	364	351	361,6	8,44
24	364	375	359	355	352	361	9,03
25	368	373	369	368	361	367,8	4,32
26	366	362	371	363	367	365,8	3,56
27	364	363	364	368	368	365,4	2,41
28	370	353	364	364	370	364,2	6,94
29	369	366	367	368	360	366	3,54
30	375	368	368	363	368	368,4	4,28
média						357,61	
dp						9,94	

5000 µg F/g							
46	340	342	350	339	337	341,6	5,03
47	342	346	336	338	339	340,2	3,90
48	346	338	338	338	350	342	5,66
49	356	347	359	361	362	357	6,04
50	351	360	360	351	353	355	4,64
51	367	369	355	356	351	359,6	7,92
52	373	364	373	359	360	365,8	6,83
53	378	368	364	359	364	366,6	7,13
54	349	349	360	364	366	357,6	8,14
55	346	366	368	359	350	357,8	9,65
56	374	364	366	359	355	363,6	7,23
57	360	359	375	375	375	368,8	8,50
58	367	366	370	373	360	367,2	4,87
59	365	363	361	366	363	363,6	1,95
60	372	370	366	362	368	367,6	3,85
média						358,2667	
dp						9,80	

GRUPO ABRASÃO

Placebo							
61	345	342	339	341	339	341,2	2,49
62	344	339	337	342	344	341,2	3,11
63	355	342	334	334	344	341,8	8,67
64	359	358	350	352	349	353,6	4,62
65	360	361	350	352	360	356,6	5,18
66	351	351	351	360	359	354,4	4,67
67	364	359	351	346	355	355	6,96
68	351	366	364	366	364	362,2	6,34
69	355	348	369	359	360	358,2	7,66
70	369	368	352	364	355	361,6	7,70
71	364	366	357	364	366	363,4	3,71
72	379	370	373	366	368	370	7,50
73	368	368	369	364	368	367,4	1,95
74	370	365	363	368	373	367,8	3,96
75	365	369	368	359	372	366,6	4,93
média						357,56	
dp						9,97	

1100 µg F/g Crest™							
91	337	340	346	350	351	344,8	6,14
92	346	351	343	342	342	344,8	3,83
93	340	357	349	338	336	344	8,80
94	343	356	359	354	356	353,6	6,19
95	355	342	359	357	340	350,6	8,91
96	355	355	360	362	359	358,2	3,11
97	368	364	361	364	375	366,4	5,41
98	350	364	359	368	359	360	6,75
99	368	373	371	371	353	367,2	8,14
100	359	360	373	373	370	367	6,96
101	368	366	366	367	362	365,8	2,28
102	356	352	368	359	359	358,8	5,89
103	368	366	361	369	373	367,4	4,39
104	339	347	335	340	342	340,6	4,39
105	366	363	368	367	369	366,6	2,30
média						357,05	
dp						9,90	

1100 µg F/g							
121	346	351	363	359	363	356,4	7,60
122	359	355	359	360	362	359	2,55
123	355	364	355	359	364	359,4	4,51
124	359	366	357	366	366	362,8	4,44
125	340	342	341	339	339	340,2	1,30
126	364	364	351	351	351	356,2	7,12
127	359	359	366	369	369	364,4	5,08
128	364	364	351	351	356	357,2	6,53
129	355	359	366	369	366	363	5,79

130	352	347	352	349	347	349,4	2,51
131	341	343	339	339	339	340,2	1,79
132	352	350	347	347	345	348,2	2,77
133	347	350	352	347	347	348,6	2,30
134	359	354	356	359	356	356,8	2,17
135	349	356	356	361	359	356,2	4,55
média						354,53	
dp						7,63	

500 µg F/g TMP 3%							
76	372	373	373	372	364	370	3,83
77	339	343	345	343	339	341,8	2,68
78	334	338	355	342	348	343,4	8,29
79	350	362	355	355	357	355,8	4,32
80	360	362	346	352	356	355,2	6,42
81	340	346	339	341	349	343	4,30
82	351	359	359	346	359	354,8	6,02
83	351	355	368	359	352	357	6,89
84	369	364	357	369	366	365	4,95
85	364	370	363	361	359	363,4	4,16
86	362	363	365	362	367	363,8	2,17
87	361	352	363	375	373	364,8	9,39
88	368	370	359	364	366	365,4	4,22
89	369	368	361	370	375	368,6	5,03
90	351	361	362	362	360	359,2	4,66
média						358,13	
dp						9,31	

5000 µg F/g							
106	350	345	349	340	339	344,6	5,03
107	346	345	341	342	340	342,8	2,59
108	359	355	346	343	340	348,6	8,08
109	364	360	357	350	351	356,4	5,94
110	340	350	357	361	354	352,4	8,02
111	368	373	368	364	355	365,6	6,73
112	364	369	369	360	370	366,4	4,28
113	369	370	366	360	369	366,8	4,09
114	363	370	365	368	360	365,2	3,96
115	372	363	369	366	366	367,2	3,42
116	352	366	369	370	366	364,6	7,27
117	366	368	347	366	356	360,6	8,93
118	368	355	368	370	377	367,6	7,96
119	360	355	372	372	368	365,4	7,60
120	336	340	346	344	359	345	8,72
média						358,61	
dp						9,39	

A média da microdureza de todos os espécimes foi de 353 KHN, sendo que para os valores mínimo e máximo foram 340, 2 KHN e 370 KHN, respectivamente.

Anexo K

Microdureza Final

Grupo Erosão

Placebo							
1	69	67	72	59	59	65,2	5,93
2	53	67	63	56	59	59,6	5,55
3	67	64	59	57	55	60,4	4,98
4	72	70	79	70	76	73,4	3,97
5	57	60	56	54	57	56,8	2,17
6	52	46	51	56	47	50,4	4,04
7	50	49	48	45	49	48,2	1,92
8	60	76	66	62	61	65	6,56
9	60	66	69	79	62	67,2	7,46
10	60	60	54	56	52	56,4	3,58
11	55	52	47	57	51	52,4	3,85
12	64	72	64	64	65	65,8	3,49
13	62	74	76	75	64	70,2	6,65
14	63	64	72	70	72	68,2	4,38
15	84	79	82	82	80	81,4	1,95
média						62,71	
dp						9,06	
1100 µg F/g Crest™							
31	122	112	119	110	120	116,6	5,27
32	88	87	84	86	90	87	2,24
33	99	100	106	90	94	97,8	6,10
34	103	109	107	112	98	105,8	5,45
35	103	102	102	100	101	101,6	1,14
36	93	112	100	96	96	99,4	7,47
37	102	93	87	113	104	99,8	10,08
38	73	81	82	97	77	82	9,11
39	87	88	84	79	77	83	4,85
40	75	77	75	73	75	75	1,41
41	99	79	100	85	79	88,4	10,43
42	115	96	103	89	102	101	9,62
43	108	109	105	107	103	106,4	2,41
44	88	80	86	90	85	85,8	3,77
45	76	85	99	82	76	83,6	9,45
média						94,21	
dp						11,55	
1100 µg F/g							
46	96	90	88	89	84	89,4	4,34
47	89	88	88	96	86	89,4	3,85
48	70	73	79	75	81	75,6	4,45
49	75	73	79	75	81	76,6	3,29
50	116	113	115	101	106	110,2	6,46
51	72	74	79	81	85	78,2	5,26

52	113	110	91	94	108	103,2	9,98
53	107	106	121	100	101	107	8,40
54	127	121	117	116	119	120	4,36
55	119	105	102	120	113	111,8	8,11
56	98	113	110	92	98	102,2	8,90
57	96	84	72	71	70	78,6	11,26
58	72	75	75	77	72	74,2	2,17
59	116	112	112	110	111	112,2	2,28
60	115	112	113	114	110	112,8	1,92
média						96,09	
dp						16,38	

500 µg F/g TMP 3%							
16	141	147	139	145	149	144,2	4,15
17	137	136	139	142	137	138,2	2,39
18	122	121	127	129	132	126,2	4,66
19	152	150	152	155	149	151,6	2,30
20	120	117	115	122	122	119,2	3,11
21	126	122	123	120	129	130	3,54
22	117	119	121	125	127	121,8	4,15
23	108	107	119	112	115	112,2	4,97
24	158	157	158	155	157	157	1,22
25	113	133	127	131	134	127,6	8,59
26	138	139	136	134	134	136,2	2,28
27	132	131	128	127	132	130	2,35
28	119	122	121	127	132	124,2	5,26
29	132	131	127	125	129	128,8	2,86
30	144	149	132	157	159	148,2	10,89
média						133,38	
dp						15,32	

5000 µg F/g							
61	139	146	149	145	147	145,2	3,77
62	127	128	127	122	127	126,2	2,39
63	132	133	132	149	146	138,4	8,38
64	127	118	123	114	129	122,2	6,22
65	129	133	135	122	130	129,8	4,97
66	114	125	117	117	126	119,8	5,36
67	109	111	121	127	129	119,4	9,10
68	113	126	129	125	111	120,8	8,20
69	119	119	116	112	120	117,2	3,27
70	141	149	136	139	136	140,2	5,36
71	135	123	139	139	136	134,4	6,62
72	118	111	114	116	121	116	3,81
73	117	119	122	113	105	115,2	6,57
74	120	118	123	125	127	122,6	3,65
75	146	143	148	138	139	142,8	4,32
média						127,35	
dp						10,33	

Grupo Abrasão

placebo							
76	100	102	104	100	97	100,6	2,61
77	80	77	74	73	71	75	3,54
78	100	103	97	103	103	101,2	2,68
79	88	96	80	86	86	87,2	5,76
80	101	89	106	103	90	97,8	7,79
81	69	66	65	60	75	67	5,52
82	99	91	85	85	81	88,2	7,01
83	96	78	90	80	80	84,8	7,82
84	77	83	70	73	82	77	5,61
85	69	64	71	90	76	74	9,92
86	47	49	65	71	50	56,4	10,85
87	80	67	70	74	70	72,2	5,02
88	73	78	96	76	78	80,2	9,07
89	88	90	96	101	87	92,4	5,94
90	87	79	90	85	87	85,6	4,10
média						82,64	
dp						12,73	

1100 µg F/g Crest™							
106	107	142	131	123	127	115	12,77
107	119	138	126	96	121	120	15,31
108	90	109	118	99	109	105	10,75
109	104	118	117	118	115	114,4	5,94
110	129	138	132	129	127	131	4,30
111	138	133	142	126	129	133,6	6,50
112	100	103	107	109	112	106,2	4,76
113	126	120	130	124	130	126	4,24
114	116	118	121	124	133	122,4	6,66
115	136	128	124	112	132	126,4	9,21
116	124	129	132	129	131	129	3,08
117	102	93	94	102	114	101	8,43
118	128	118	113	120	122	120,2	5,50
119	130	132	129	133	134	131,6	2,07
120	109	119	107	121	123	115,8	7,29
média						82,64	
dp						12,73	

1100 µg F/g							
121	131	122	141	147	132	134,6	9,66
122	123	137	140	135	127	132,4	7,13
123	113	117	120	127	129	121,2	6,72
124	135	132	113	122	111	122,6	10,83
125	113	102	101	109	117	108,4	6,91
126	136	130	115	121	112	122,8	10,08
127	92	91	100	102	118	100,6	10,85
128	101	122	117	110	101	110,2	9,42
129	132	112	113	114	137	121,6	11,93

130	125	127	121	120	132	125	4,85
131	108	136	135	138	140	131,4	13,22
132	113	117	118	120	122	118	3,39
133	126	119	117	115	115	118,4	4,56
134	131	141	147	137	139	139	5,83
135	133	134	130	118	128	128,6	6,39
média						122,32	
dp						10,38	

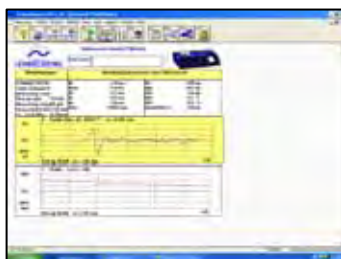
500 µg F/g TMP 3%							
91	149	133	147	142	145	143,2	6,26
92	149	135	147	157	164	150,4	10,95
93	140	137	138	143	149	141,4	4,83
94	153	141	131	148	144	143,4	8,26
95	144	147	159	151	155	151,2	6,02
96	154	133	149	135	157	145,6	10,99
97	142	156	154	142	141	147	7,35
98	131	133	122	139	140	133	7,25
99	132	139	138	152	131	138	8,38
100	133	154	132	128	140	137,4	10,24
101	156	149	147	152	149	150,6	3,51
102	145	140	146	149	150	146	3,94
103	152	149	155	153	145	150,8	3,90
104	149	156	154	150	154	152,6	2,97
105	159	157	156	166	169	161,4	5,77
média						146,13	
dp						7,15	

5000 µg F/g							
136	157	154	154	146	135	149,2	8,93
137	158	157	160	141	156	154,4	7,64
138	164	168	162	160	147	160,2	7,95
139	130	139	130	138	127	132,8	5,36
140	165	156	158	160	158	159,4	3,44
141	126	128	120	136	111	124,2	9,34
142	156	140	141	136	131	140,8	9,36
143	128	136	117	113	124	123,6	9,07
144	139	149	127	147	153	143	10,30
145	145	132	120	145	138	136	10,46
146	137	142	143	152	157	146,2	8,11
147	162	165	162	167	172	165,6	4,16
148	137	120	113	125	130	125	9,19
149	117	120	113	125	130	121	6,67
150	127	116	125	117	120	121	4,85
média						140,16	
dp						15,38	

Anexo L



Rugosímetro Hommel Tester T 1000 (Hommelwerke, GmbH, Alte Tuttinger
Strebe 20. D-7730 VS- Schwenningen.),



Software Turbo Datawin-NT Version 1.34, Copyright 2001)

Anexo M

Perfilometria - Desgaste Superficial (Erosão)

Placebo					ERO	
1	3,55	3,84	3,72	3,77	3,58	3,69
2	3,1	3,15	3,16	3,27	3,21	3,18
3	3,47	3,42	3,44	3,59	3,43	3,47
4	3,47	3,27	3,41	3,6	3,8	3,51
5	3,07	3,05	3,12	3,11	3,05	3,08
6	3,86	3,51	3,51	3,81	3,63	3,66
7	3,12	3,17	3,1	3,26	3,2	3,17
8	3,11	3,22	3,21	3,07	3,13	3,15
9	3,15	3,26	3,21	3,18	3,11	3,18
10	3,6	3,53	3,44	3,42	3,47	3,49
11	3,41	3,37	3,11	3,3	3,27	3,29
12	3,21	3,3	3,27	3,25	3,33	3,27
13	3,6	3,82	3,76	3,72	3,7	3,72
14	3,1	3,07	3,02	3,11	3,15	3,09
15	3,38	3,59	3,3	3,65	3,6	3,50
					média	3,36
					dp	0,23

CREST					ERO	
31	2,59	2,9	2,93	2,68	2,71	2,76
32	2,54	2,59	2,48	2,67	2,61	2,58
33	2,51	2,84	2,89	2,88	2,82	2,79
34	2,72	2,79	2,62	2,89	2,85	2,77
35	2,55	2,5	2,58	2,68	2,83	2,63
36	2,53	2,62	2,67	2,51	2,5	2,57
37	2,36	2,26	2,1	2,18	2,14	2,21
38	2,2	2,17	2,23	2,15	2,12	2,17
39	1,98	1,99	2,01	2,01	2,02	2,00
40	2,04	2,05	2,07	1,94	1,98	2,02
41	2,15	2,22	2,19	2,27	2,29	2,22
42	2,8	2,75	2,71	2,83	2,76	2,77
43	2,2	2,17	2,12	2,23	2,15	2,17
44	2,82	2,77	2,8	2,61	2,67	2,73
45	2,31	2,38	2,5	2,51	2,49	2,44
					média	2,46
					dp	0,29

1100					ERO	
46	2,68	2,67	2,72	2,53	2,47	2,61
47	2,3	2,27	2,29	2,37	2,31	2,31
48	2,17	2,2	2,22	2,15	2,14	2,18
49	2,32	2,26	2,12	2,16	2,23	2,22
50	2,38	2,54	2,6	2,68	2,85	2,61
51	2,55	2,51	2,46	2,43	2,39	2,47

52	2,3	2,35	2,28	2,34	2,32	2,32
53	2,8	2,78	2,77	2,84	2,89	2,82
54	2,21	2,2	2,27	2,39	2,13	2,24
55	2,67	2,82	2,91	2,87	2,75	2,80
56	2,49	2,6	2,48	2,55	2,6	2,54
57	2,77	2,81	2,75	2,86	2,89	2,82
58	2,32	2,29	2,21	2,25	2,33	2,28
59	2,07	2,09	1,98	1,96	2,01	2,02
60	2,62	2,8	2,72	2,38	2,46	2,60
					média	2,46
					dp	0,25

500 TMP 3%					ERO	
16	1,17	1,21	1,23	1,27	1,21	1,22
17	1,25	1,27	1,51	1,57	1,54	1,43
18	1,52	1,23	1,58	1,56	1,32	1,44
19	1,27	1,3	1,39	1,6	1,66	1,44
20	1,31	1,47	1,41	1,44	1,33	1,39
21	1,63	1,55	1,58	1,61	1,51	1,58
22	1,1	1,14	1,16	1,25	1,17	1,16
23	1,17	1,29	1,29	1,25	1,1	1,22
24	1,17	1,24	1,22	1,27	1,24	1,23
25	1,11	1,02	1,01	1,03	1,05	1,04
26	1,18	1,25	1,29	1,32	1,22	1,25
27	1,21	1,15	1,27	1,25	1,12	1,20
28	1,1	1,12	1,27	1,3	1,19	1,20
29	1,25	1,14	1,12	1,19	1,09	1,16
30	1,41	1,47	1,35	1,39	1,44	1,41
					média	1,29
					dp	0,15

5000					ERO	
61	1,84	1,82	1,9	1,94	1,86	1,87
62	1,23	1,29	1,37	1,44	1,36	1,34
63	1,12	1,41	1,26	1,14	1,32	1,25
64	1,4	1,38	1,47	1,45	1,49	1,44
65	1,71	1,79	1,79	1,8	1,76	1,77
66	1,5	1,41	1,47	1,48	1,47	1,47
67	1,61	1,65	1,67	1,67	1,65	1,65
68	1,69	1,64	1,57	1,67	1,6	1,63
69	1,46	1,65	1,61	1,59	1,64	1,59
70	1,27	1,31	1,56	1,35	1,39	1,38
71	1,11	1,01	1,03	1,05	1,02	1,04
72	1,17	1,19	1,13	1,2	1,22	1,18
73	1,79	1,75	1,86	1,82	1,7	1,78
74	1,05	1,08	1,06	1,15	1,17	1,10
75	1,5	1,42	1,47	1,43	1,41	1,45
					média	1,46
					dp	0,25

Anexo N

Perfilometria - Desgaste Superficial (Erosão + Abrasão)

Placebo				ABR		
76	4,5	4,83	4,71	4,43	4,42	4,58
77	4,46	4,52	4,6	4,63	4,53	4,55
78	4,3	4,29	4,31	4,15	4,15	4,24
79	4,17	4,1	4,01	4,27	4,19	4,15
80	6,54	6,5	5,4	6,42	6,5	6,27
81	4,53	4,75	4,33	4,51	4,5	4,52
82	4,23	4,48	4,44	4,48	4,5	4,43
83	4,4	4,75	4,15	4,25	4,29	4,37
84	4,4	4	3,98	4,02	3,98	4,08
85	4,48	4,56	4,5	4,42	4,61	4,51
86	5,26	5,05	4,98	4,9	4,88	5,01
87	5,06	5,1	5,17	5,01	5,03	5,07
88	4,88	4,89	4,72	4,9	4,74	4,83
89	4,6	4,54	4,56	4,62	4,7	4,60
90	4,3	4,29	4,21	4,19	4,22	4,24
					média	4,63
					dp	0,54
CREST				ABR		
106	2,35	2,45	2,88	2,35	2,33	2,47
107	3,16	3,24	3,37	3,42	3,22	3,28
108	2,89	3,05	3,15	3,1	2,79	3,00
109	2,98	2,7	2,72	2,74	2,8	2,79
110	3,1	3,15	3,22	3,12	3,25	3,17
111	3,63	3,44	3,39	3,42	3,48	3,47
112	2,73	2,8	2,89	2,82	2,75	2,80
113	3,18	3,35	3,35	3,29	3,36	3,31
114	2,5	2,75	2,78	2,8	2,82	2,73
115	2,5	2,45	2,76	2,66	2,52	2,58
116	3,64	3,52	3,81	3,6	3,75	3,66
117	3,55	3,6	3,35	3,5	3,78	3,56
118	3,67	3,76	3,72	3,6	3,82	3,71
119	2,64	2,76	2,58	2,5	2,62	2,62
120	3,42	3,35	3,44	3,48	3,3	3,40
					média	3,10
					dp	0,42
1100				ABR		
121	3,42	4,01	4,1	3,8	3,9	3,85
122	3,4	3,42	3,43	3,52	3,37	3,43
123	3,37	3,1	3,48	3,7	3,76	3,48
124	3,6	3,65	3,59	3,72	3,73	3,66
125	2,92	3,76	3,8	3,02	2,92	3,28
126	2,98	2,85	2,83	2,79	2,82	2,85

127	3,31	2,94	2,85	3,37	2,8	3,05
128	3,08	3,31	3,07	3,92	3,58	3,39
129	3,22	3,3	3,38	3,31	3,29	3,30
130	3,51	3,6	3,9	3,68	3,72	3,68
131	4,07	4,19	4,02	3,91	4,1	4,06
132	2,92	2,97	3,01	3,12	2,99	3,00
133	4,2	4,18	3,98	4,17	4,11	4,13
134	3,05	3,11	3,22	2,92	3,18	3,10
135	3,18	3,21	3,25	3,28	3,33	3,25
					média	3,43
					dp	0,38

500 TMP 3%							ABR
91	1,97	2,1	2,25	2,18	2,19	2,14	
92	2,15	2,07	2,19	2,25	2,02	2,14	
93	2,38	2,41	2,3	2,17	2,01	2,25	
94	2,36	2,54	2,32	2,34	2,5	2,41	
95	2,9	2,89	2,79	2,05	2,1	2,55	
96	1,79	1,78	1,71	1,98	2,05	1,86	
97	2,05	1,98	1,89	1,79	2,01	1,94	
98	2,2	2,17	2,55	2,6	2,14	2,33	
99	2,53	2,8	2,6	2,66	2,72	2,66	
100	2,05	2,4	2,25	2,21	2,22	2,23	
101	2,32	2,29	2,34	2,33	2,25	2,31	
102	2,17	2,18	2,18	2,2	2,13	2,17	
103	2,32	2,07	2,24	2,26	2,34	2,25	
104	2,98	2,89	2,9	2,92	2,57	2,85	
105	1,92	1,98	2,05	2,1	2,2	2,05	
					média	2,28	
					dp	0,26	

5000							ABR
136	1,99	2,29	2,28	2,17	2,07	2,16	
137	2,26	1,97	1,84	1,84	1,92	1,97	
138	2,078	2,2	2,01	1,75	2,04	2,02	
139	2,5	2,47	2,15	2,09	2,22	2,29	
140	2,16	2,21	2,12	1,96	1,84	2,06	
141	1,89	1,87	1,82	1,97	1,99	1,91	
142	2,6	2,65	2,7	2,72	2,82	2,70	
143	1,78	1,76	1,82	1,9	1,84	1,82	
144	2,72	2,66	2,6	2,64	2,62	2,65	
145	1,84	1,92	2,11	2	2,12	2,00	
146	1,72	1,62	1,67	1,78	1,82	1,72	
147	2,46	2,2	2,18	2,38	2,41	2,33	
148	2,48	2,66	2,6	2,68	2,47	2,58	
149	2,21	2,03	2,12	2,03	2,14	2,11	
150	2,35	2,44	2,34	2,31	2,36	2,36	
					média	2,18	
					dp	0,30	

Anexo O

Caries Research Guidelines for Authors

www.karger.com/cre_guidelines

Aims and Scope

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

Submission

Manuscripts written in English should be submitted at

[Online Manuscript Submission](#)

Should you experience problems with your submission, please contact:

Dr. R.P. Shellis

r.p.shellis@bris.ac.uk

Tel. +44 (0)117 928 4328

Fax +44 (0)117 928 4778

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

Conditions

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

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

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

Types of Papers

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

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

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

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

Preparation of Manuscripts

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

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

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

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

Declaration of Interests: Potential conflicts of interest should be identified for each author or, if there are no such conflicts, this should be stated explicitly. Conflict of interest exists where an author has a personal or financial relationship that might introduce bias or affect their judgement. Examples of situations where conflicts of interest might arise are restrictive conditions in the funding of the research, or payment to an investigator from organisations with an interest in the study (including employment, consultancies, honoraria,

ownership of shares). The fact that a study is conducted on behalf of a commercial body using funds supplied to the investigators' institution by the sponsor does not in itself involve a conflict of interest. Investigators should disclose potential conflicts to study participants and should state whether they have done so.

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

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

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

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

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

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

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

In studies on laboratory animals, the experimental procedures should conform to the principles laid down in the [European Convention for the Protection of](#)

Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes and/or the National Research Council Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

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

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

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

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

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

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

Illustrations:

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

▲ Color Illustrations

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

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

References

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Digital Object Identifier (DOI)

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

Examples

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

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

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

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

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

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

Author's Choice™

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

Page Charges

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

Proofs

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

Reprints

Order forms and a price list are sent with the proofs.