



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO ODONTOLOGIA
CURSO DE ODONTOLOGIA**

CIBELE DA CRUZ PRATES

**EFEITO *IN SITU* DA APLICAÇÃO INTRABUCAL DE PASTAS CONTENDO
CASEÍNA FOSFOPEPTÍDEA FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO NA EROSÃO
DENTÁRIA**

**CAMPINA GRANDE - PB
2020**

CIBELE DA CRUZ PRATES

**EFEITO *IN SITU* DA APLICAÇÃO INTRABUCAL DE PASTAS CONTENDO
CASEÍNA FOSFOPEPTÍDEA FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO NA EROSÃO
DENTÁRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Cirurgião-dentista.

Área de concentração: Odontopediatria.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti.

**CAMPINA GRANDE - PB
2020**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

P912e Prates, Cibele da Cruz.
Efeito *In Situ* da aplicação intrabucal de pastas contendo caseína fosfopeptídeo fosfato de cálcio amorfo na erosão dentária [manuscrito] / Cibele da Cruz Prates. - 2020.
37 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2021.
"Orientação : Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti, Coordenação do Curso de Odontologia - CCBS."
1. Esmalte dentário. 2. Erosão dentária. 3. Caseínas. 4. Creme dental. I. Título
21. ed. CDD 617.695

CIBELE DA CRUZ PRATES

**EFEITO *IN SITU* DA APLICAÇÃO INTRABUCAL DE PASTAS CONTENDO
CASEÍNA FOSFOPEPTÍDEA FOSFATO DE CÁLCIO AMORFO NA EROSÃO
DENTÁRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Departamento de Odontologia
da Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Cirurgião-dentista.

Área de concentração: Odontopediatria.

Aprovada em: 16/12/2020.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Liege Helena Freitas Fernandes
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Ma. Isla Camilla Carvalho Laureano
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Dedico este trabalho aos meus amados pais **Alfredino** e **Cida**; aos meus queridos irmãos **Gabriel**, **Samuel** e **Emmanuel**; ao meu namorado **Silvestarley**; aos meus estimados sogros **Audi** e **Luzimar**.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter permitido que eu chegasse até aqui e me ofertado inúmeras oportunidades e realizações. *“Põe tua esperança Naquele a quem ninguém substitui”* (Agostinho)

A minha família, meus pais Alfredino e Cida, meus irmãos Gabriel, Samuel e Emmanuel, minha avó Nice (*in memoriam*), meu avô Filó (*in memoriam*), a minha prima Beatriz, Tia Nena e D. Lindóia e família, por serem amparo nas mais variadas intempéries da vida, por me educarem e serem exemplos de honestidade, respeito e fraternidade. *“A verdadeira felicidade está na própria casa, entre as alegrias da família”* (Léon Tolstói)

Ao meu amor, Silvestarley Oliveira, por me incentivar e estar comigo em todos os momentos. Obrigada por despertar o meu coração para os melhores sentimentos. Que Deus continue nos abençoando e nos mantenha no caminho do bem. Aos meus sogros, Audi e Luzimar; e cunhados, Alan e Silmara, pelo apoio, cuidado e carinho. *“Um amor nobre e puro encontra em si mesmo sua mais bela recompensa”* (Lavater)

Ao professor Alessandro pelas oportunidades, confiança, honestidade e ensinamentos. Obrigada por acreditar no meu potencial! Ao meu grupo de pesquisa, em especial, Liege Helena, por me ajudar e orientar. *“À claridade do ensino deve aliar-se a glória do exemplo”* (Emmanuel)

Aos meus amigos e colegas de faculdade, em especial minha dupla de clínicas, Maria Novélia, pelo companheirismo, incentivo, conversas e sobretudo pela satisfação que me foi dada, de participar da sua brilhante trajetória. Ao meu amigo Ildemir Farias, pelos conselhos, materiais compartilhados e ensinamentos. Aos meus amigos Allyson Martin, Beatriz Diniz, Franciele Lira, Jullie Guimarães, Larissa Tiany, Sandryenne, Vanessa, Wallas, Yuri e Yasmin, por dividirem comigo momentos importantes da minha caminhada acadêmica e pessoal. *“O amigo é uma bênção que nos cabe cultivar no clima da gratidão”* (André Luiz)

As minhas queridas amigas Kallynne Araújo, Laís Dourado, Maiara Araújo, Marcelle Lopes e Tatyane Chaves pelo apoio e confiança. *“As palavras de amizade e conforto podem ser curtas e sucintas, mas o seu eco é infundável”* (Madre Teresa de Calcutá)

A minha Tia Diana e família, por me receber no seu lar nos meus primeiros anos de graduação. *“Cada boa ação que você pratica é uma luz que você cria em torno de seus próprios passos” (Chico Xavier)*

A todos os professores do Departamento de Odontologia da UEPB, Campus I, pela transmissão de conhecimentos científicos, profissionais e morais. Cito em especial, os nomes dos professores Alessandro Cavalcanti, Alexandre Durval, Amaro Lafayette, Ana Flávia Granville-Garcia, Bruna Rafaela, Edja Costa, Daniela Pita, Gabriela Barreto, Igor Figueiredo, Jossaria, Jozinete Vieira, Maria Helena Catão, Maria Jacinta, Raquel Cristina e Thiago João, os quais me marcaram de forma especial. *“Em toda tarefa de educação, exemplificar é explicar” (Emmanuel)*

Aos meus pacientes, por serem fonte de aprendizado e pela confiança. *“Ajudar com o sentimento, com a ideia, com a palavra e com a ação, ajudar a todos e melhorar sempre é invocar, em nosso favor, o apoio integral da vida” (Emmanuel)*

Aos demais funcionários da instituição, em especial Alexandre Cordeiro, Clécia, Dione, Jocelma, Josefa (Pequena), Marta, Maria, Salomé, Thiago, S. João (biblioteca), S. Cícero, Cícera, Irací e funcionários da biblioteca, por tornarem o meu cotidiano mais leve, produtivo, organizado, alegre e descontraído. *“Quem busca realmente servir, nunca dispõe de motivos para se arrepender” (Emmanuel)*

.

“A educação, se bem compreendida, é a chave do progresso moral. ”

(Allan Kardec)

RESUMO

Objetivo: Analisar o efeito da aplicação intra-oral das pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF na precipitação mineral de lesões iniciais de erosão dentária. **Metodologia:** Espécimes de esmalte bovinos foram divididos aleatoriamente para 6 voluntários, em 3 grupos de tratamento: GI. Pasta de CPP-ACP, GII. Pasta de CPP-ACPF, GIII. Pasta placebo, sem CPP-ACP e com fluoreto. Os espécimes de esmalte foram selecionados pela dureza da superfície (SH_i), erodidos *in vitro* pela imersão em ácido clorídrico por 30 segundos (SH_{des}) e randomizados entre os grupos de tratamento e entre os voluntários, que utilizaram o dispositivo intrabucal palatino por 2 horas, aplicaram o tratamento sobre os espécimes e utilizaram o dispositivo intrabucal palatino por mais 3 horas adicionais, em 3 fases cruzadas, intercaladas com um período de 1 dia de *washout*. Após isso, a dureza superficial (SH_{re}) foi aferida para estimativa do potencial de re-endurecimento do esmalte amolecido promovido pelos tratamentos. **Resultados:** Os dados foram analisados por meio de estatística inferencial, através do *software* SPSS 18.0. As médias das durezas finais e pós erosão foram estatisticamente significantes para as três pastas testadas, logo ambas apresentaram efeito reendurecedor do esmalte amolecido, porém sem diferença entre elas. **Conclusão:** As pastas de CPP-ACP, suplementadas ou não pelo fluoreto, não demonstraram eficácia superior em reendurecer o esmalte amolecido, em relação à pasta placebo.

Palavras-chave: Esmalte dentário. Erosão Dentária. Caseínas. Cremes Dentais.

ABSTRACT

Objective: To analyze the effect of intra-oral application of CPP-ACP and CPP-ACPF pastes on mineral precipitation of initial dental erosion lesions. **Methodology:** Bovine enamel specimens were randomly assigned to 6 volunteers, in 3 treatment groups: GI. CPP-ACP portfolio, GII. CPP-ACPF portfolio, GIII. Placebo paste, without CPP-ACP and with fluoride. The enamel specimens were selected for their surface hardness (SHi), eroded in vitro by immersion in hydrochloric acid for 30 seconds (SHdes) and randomized between the treatment groups and among the volunteers, who used the palatal intraoral device for 2 hours, applied the treatment to the specimens and used the palatal intraoral device for an additional 3 hours, in 3 crossed phases, interspersed with a period of 1 day of washout. After that, the surface hardness (SHre) was measured to estimate the potential for re-hardening of the softened enamel promoted by the treatments. **Results:** The data were analyzed using inferential statistics, using the SPSS 18.0 software. The averages of the final hardness and post erosion were statistically significant for the three pastes tested, so both had a hardening effect on the softened enamel, but with no difference between them. **Conclusion:** CPP-ACP pastes, whether or not supplemented by fluoride, have not shown superior efficacy in hardening the softened enamel, compared to the placebo paste.

Keywords: Dental Enamel. Tooth Erosion. Caseins. Toothpastes.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
3	METODOLOGIA	13
3.1	Delineamento experimental	13
3.2	Variáveis	13
3.3	Seleção dos voluntários	14
3.3.1	<i>Critérios de inclusão</i>	15
3.3.2	<i>Critérios de exclusão</i>	15
3.4	Preparo do Dispositivo Intrabucal Palatino	15
3.5	Preparo dos Espécimes	16
3.5.1	<i>Obtenção dos dentes bovinos</i>	16
3.5.2	<i>Preparo dos Espécimes de Esmalte</i>	16
3.6	Avaliação da Dureza Superficial Inicial (SHi)	17
3.7	Esterilização dos Espécimes de Esmalte	18
3.8	Tratamento dos Espécimes de Esmalte	18
3.8.1	<i>Obtenção dos dentes bovinos</i>	18
3.8.2	<i>Avaliação da Dureza Superficial Pós-desmineralização (SHdes)</i>	18
3.8.3	<i>Aleatorização dos Espécimes de Esmalte</i>	19
3.9	Procedimentos Intrabucais	19
3.10	Avaliação da Dureza Superficial Pós-Remineralização (SHre) e Cálculo do Percentual de Recuperação de Dureza (%SHR)	20
3.11	Análise Estatística	20
3.12	Aspectos Éticos	20
3.12.1	<i>Termo de Consentimento Livre Esclarecido</i>	21
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5	CONCLUSÃO	25
	REFERÊNCIAS	26
	APÊNDICE A - FORMULÁRIO PARA SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES	30
	APÊNDICE B - INSTRUÇÕES GERAIS PARA OS PARTICIPANTES	31

APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	33
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA UEPB	35

1 INTRODUÇÃO

A erosão dentária é caracterizada como uma perda progressiva e não reversível de estrutura dentária provocada por processos químicos que não envolvem ação de bactérias (AMAECHI; HIGHAM, 2005; SOUZA, 2017).

É uma condição que envolve a interação de fatores químicos como consumo de bebidas ou alimentos ácidos que dependem de fatores químicos (pH, acidez, conteúdo mineral, depuração da superfície do dente e suas propriedades de quelação de cálcio), fatores biológicos (saliva, película adquirida, estrutura dentária e posicionamento em relação aos tecidos moles e língua) e fatores comportamentais, que envolve os hábitos alimentares, a prática de exercícios regulares sem hidratação e diminuição do fluxo salivar, higiene bucal inadequada e hábitos não saudáveis como consumo crônico do álcool (LUSSI; JAEGI, 2008).

Quando em contato com a superfície dentária os ácidos acarretam a dissolução do tecido duro inorgânico, ocasionando diminuição da resistência mecânica e redução da dureza da camada superficial (KANZOW *et al.*, 2016). Assim sendo, a erosão dentária pode ser dividida em duas fases (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; BUZALAF; HANNAS; KATO, 2012): Fase 1: A erosão (processo químico), em que ocorre uma desmineralização parcial do esmalte ou dentina ocasionando o amolecimento da superfície e Fase 2: O desgaste dentário erosivo, que caracteriza a fase avançada, em que há perda da superfície anteriormente amolecida, mediante o efeito combinado da erosão e do desgaste mecânico da superfície do dente (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011; HUYSMANS; YOUNG; GANSS, 2014; SHELLIS; ADDY, 2014; DINIZ; LUSSI, 2017).

A caseína fosfopéptideo-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) é derivada da caseína do leite (KUMAR; ITTHAGARUN; KING, 2008; REYNOLDS, 2009) e consiste em fosfopeptídeos de caseína (CPP) agregados com fosfato de cálcio para formar aglomerados de fosfato de cálcio amorfo (ACP) (REYNOLDS, 2009; VANICHVATANA; AUYPCHAI, 2013). O CPP-ACP atua como uma fonte suplementar de cálcio e fosfato biodisponíveis no ambiente bucal (TANTBIROJN *et al.*, 2008), sendo proposto tanto por inibir a perda de minerais (HAMBA *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2014; ZAWAIDEH; OWAIS; MUSHTAHA, 2017), como para intensificar sua deposição em lesões desmineralizadas do esmalte dentário, à exemplo das lesões erosivas (SRINIVASAN; KAVITHA; LOGANATHAN, 2010; PRESTES *et al.*, 2013).

Assim, as pastas contendo CPP-ACP podem ser consideradas como alternativas potencializadoras do processo de deposição mineral (TURSSI *et al.*, 2011), sendo um reservatório adicional de íons cálcio e fosfato no meio bucal (TANTBIROJN *et al.*, 2008). A pasta de CPP-ACP está disponível como um produto de aplicação tópica (MI Paste™, GC America Inc., USA / GC Tooth Mousse; GC Corporation, Tóquio, Japão) e quando contém 0,2% de fluoreto (900 ppm) é comercializada como uma pasta de CPP-ACPF (MI Paste Plus™, GC America Inc., USA / GC Tooth Mousse Plus; GC Corporation, Tóquio, Japão) (VANICHVATANA; AUYCHAI, 2013).

2 OBJETIVOS

Analisar o potencial de reendurecimento de pastas a base de CPP-ACP em lesão inicial de erosão.

3 METODOLOGIA

3.1 Delineamento Experimental

Foi realizado um estudo experimental *in situ*, do tipo cruzado e duplo-cego com desenho aleatório. Inicialmente será descrita a metodologia empregada para execução dos procedimentos preliminares de preparação dos espécimes de esmalte, seleção dos voluntários e confecção dos dispositivos intra-orais palatinos.

3.2 Variáveis

As variáveis eleitas dependentes e independentes em virtude do plano de análise dos dados dessa pesquisa estão descritas no quadro abaixo:

VARIÁVEL	Definição	Forma de mensuração	Classificação quanto à natureza do dado produzido	Classificação quanto ao plano de análise
Erosão Dentária	Perda da estrutura mineral devido à dissolução por ácidos não bacterianos.	Dureza superficial (Penetrador Vickers)	Quantitativa contínua	Dependente
Tipo de tratamento	Tipo de pasta utilizada no combate ao amolecimento superficial do esmalte.	1. Pasta de CPP-ACP 2. Pasta de CPP-ACPF 3. Pasta placebo	Qualitativa nominal	Independente

3.3 Seleção dos Voluntários

Adultos jovens, com idade entre 18 e 25 anos, alunos de graduação do curso de odontologia da Universidade Estadual da Paraíba foram selecionados para participar da pesquisa. Não houve recusa de nenhum voluntário selecionado.

Os voluntários foram submetidos a um exame clínico, realizado por um único pesquisador, com espátula de madeira sob luz natural, para detecção de cárie ativa e/ou desgaste dentário (ALENCAR, 2013). A fim de incluir no estudo indivíduos com padrões salivares semelhantes, foram realizados testes salivares de pH e fluxo estimulado e não estimulado (Apêndice A).

- Avaliação do fluxo salivar não estimulado

O voluntário foi acomodado em uma cadeira odontológica localizada na clínica escola de odontologia da UEPB, em um dia em que não foram agendados atendimentos de rotina, garantindo um lugar tranquilo, sem estímulos olfativos ou visuais onde permaneceu em repouso com a cabeça levemente inclinada para baixo. Durante 15 minutos a saliva foi dispensada passivamente em um béquer de 100 mL (Uniglas Becker, São Paulo, Brasil) previamente pesado em uma balança eletrônica de precisão (Shimadzu Corporation, AU220, UniBloc, Japão). Após a coleta, o peso do recipiente foi novamente aferido. Considerando-se a densidade da saliva como 1, foi dividida a diferença entre os pesos inicial e final pelo tempo de 15 minutos, resultando na determinação do volume e velocidade de liberação da saliva (mL/min – fluxo normal > 0,1mL/min). O pH da saliva coletada foi aferido por meio de um pHmetro (W3B, pH Meter, Bel Engineering, Itália) utilizando uma amostra de 1 mL de saliva (ALENCAR, 2015; MENDONÇA, 2015; ALMEIDA, 2016).

- Avaliação do fluxo salivar estimulado

Os voluntários mascararam um pedaço de aproximadamente 1 cm de uma película transparente flexível de parafina (Parafilm M, Laboratory Film, Bemis Company, Inc., USA, previamente esterilizado, para estimular a produção de saliva. A saliva produzida durante os primeiros 30 segundos foi deglutida, sendo subsequentemente coletada por 5 minutos em um béquer de 100 mL previamente pesado (MENDONÇA, 2015). Os voluntários foram instruídos a movimentar constantemente a película de parafina na cavidade bucal. A saliva

coletada no béquer foi pesada de forma semelhante à saliva não estimulada. O fluxo salivar estimulado foi expresso em mililitros por minuto (mL/min.) e uma amostra de 1 mL foi utilizada para determinar seu pH. Foi considerado normal um fluxo maior que 1mL/min (ALENCAR, 2015; MENDONÇA, 2015; ALMEIDA, 2016).

3.3.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos os indivíduos sem lesão de cárie e de erosão ativas, sem desgaste dentário, com pH salivar X, fluxo salivar não estimulado maior que 0,1 ml/min e fluxo salivar estimulado maior que 1 ml/min.

3.3.2 Critérios de Exclusão

E excluídos os indivíduos fumantes, que receberam aplicação tópica de flúor gel, pelo menos duas semanas antes do estudo; que utilizaram nos últimos 2 meses, ou que utilizam medicamentos que alteram o fluxo salivar (antidepressivos, narcóticos, diuréticos ou anti-histamínicos), que sofreram irradiação ou quimioterapia, que praticam atividades aquáticas em piscina clorada; que apresentam doenças sistêmicas tais como as auto-imune, xerostomia, diabetes tipo 1, má nutrição, problemas gastro-esofágicos e distúrbios de regurgitação e vômito e que usam prótese e/ou aparelho ortodôntico (Apêndice A); Esses critérios foram utilizados com a finalidade de padronizar o ambiente bucal do voluntário, para que o resultado obtido fosse influenciado apenas pelo uso da pasta.

3.4 Preparo do Dispositivo Intrabucal Palatino

Inicialmente foi obtido um molde de alginato (DencriGel, Dencril, São Paulo, Brasil) do arco superior dos voluntários selecionados para participar do estudo. O molde foi vazado em gesso pedra (Asfer Indústria Química Ltda., São Caetano do Sul, SP, Brasil) para obtenção do modelo de gesso sobre o qual foram confeccionados os dispositivos intrabucais palatinos em resina acrílica (Jet, Artigos Odontológicos Clássicos, São Paulo, SP, Brasil) pela técnica do pincel, pó e líquido.

Para cada voluntário foram fabricados três dispositivos intrabucais palatinos removíveis, um para cada grupo. Em cada dispositivo foram confeccionadas duas cavidades de 6 x 6 x 3 mm (comprimento x largura x profundidade), uma do lado direito e uma do esquerdo, para fixação de um espécime em cada uma delas com cera para técnica de enceramento progressivo (NewWax, Technew Com. e Ind. Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (ALENCAR *et al.*, 2014).

Os espécimes foram adaptados ao nível da superfície de resina do dispositivo (JORDÃO *et al.*, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2017) e sobre eles foram cuidadosamente fixados segmentos de fio ortodôntico CrNi 0,6mm no sentido transversal, sem entrar em contato com os espécimes, para impedir a remoção ou alteração da película adquirida formada em função do eventual contato da língua e tecidos moles com a superfície dos espécimes (JORDÃO *et al.*, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2017). Além disso, os voluntários foram orientados a não tocar os espécimes com a língua.

3.5 Preparo dos Espécimes

3.5.1 Obtenção dos Dentes Bovinos

Os dentes bovinos (aproximadamente 300) extraídos de gado da raça Nelore com idade média de 36 meses, foram obtidos em abatedouros bovinos. Os dentes passaram por uma seleção prévia e apenas aqueles que não apresentaram alterações visíveis no esmalte foram utilizados (trincas, rachaduras, grande desgaste incisal, manchas e/ou defeitos hipoplásicos).

Os dentes foram inicialmente limpos com curetas periodontais (Duflex 55G/SS, White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), de forma que todo e qualquer resíduo de tecido gengival aderido à superfície do dente bovino fosse removido, e mantidos em solução de timol a 0,1%, pH 7,0 (Dilecta® Farmácia de Manipulação & Homeopatia, João Pessoa, Paraíba, Brasil) (ALENCAR *et al.*, 2014), e a 4°C até o processo de corte e obtenção dos espécimes.

3.5.2 Preparo dos Espécimes de Esmalte

Na etapa inicial, as raízes foram separadas de suas coroas, com o auxílio de um motor de suspensão (Motor Chicote de Suspensão Beltec Mini velocidade 15.000 rpm -Beltec Ind. Com. Equipamentos Odontológicos, Araraquara, SP, Brasil) e broca carbide (Angelus Ind. Produtos Odontológicos S/A, Londrina, PR, Brasil) feita uma secção na região ligeiramente apical à junção amelocementária.

Em seguida, para obtenção dos espécimes de esmalte, as coroas foram fixadas com godiva termoativada (Godibar bastão verde, Lysanda, Brasil) no centro de um disco de acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 6 mm de espessura) que foi parafusada em um aparelho de corte de precisão (ISOMET Low Speed Saw, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA). Com o auxílio de um disco de inox (Bosch 2, AS 60T INOX BF, 115 x 1x 22,23mm, Alemanha), com velocidade de 300 rpm sob refrigeração e mediante secção no sentido

cérvico-incisal e méso-distal da porção mais plana da coroa foram obtidos os fragmentos dentários com área de 4 x 4 mm² (ALENCAR, 2013; ALENCAR, 2015; ALMEIDA, 2016).

Com o intuito de realizar a planificação da dentina, os fragmentos foram posicionados no centro do disco acrílico cristal com a maior área plana de esmalte voltada para o disco e com auxílio de uma espátula elétrica simples (Plaster, 15 ELST 4994, Plaster Ind. e Com. Ltda., Caxias do Sul, RS, Brasil) foram fixados colocando-se cera para técnica de enceramento progressivo (NewWax, Technew Com. e Ind, Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) ao redor do espécime de dente. O conjunto (disco/dente) foi planificado em uma politriz metalográfica (Politriz Lixadeira Metalográfica, PL02E -Teclago), em baixa velocidade (300 rpm). Neste procedimento de planificação, uma lixa d'água granulação 320 (3M, 211Q, 3M Company, Minnesota, USA) sob refrigeração foi utilizada, até que os fragmentos atingissem espessura de aproximadamente três mm (ALENCAR, 2015; ALMEIDA, 2016).

Posteriormente, os espécimes foram removidos do disco de acrílico e limpos, de forma que todo resíduo de cera fosse retirado. Em seguida, foram novamente fixados com cera para técnica de enceramento progressivo (NewWax, Technew Com. e Ind, Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) no centro do disco de acrílico com o esmalte voltado para cima. O conjunto foi levado à politriz iniciando o desgaste do esmalte, sob refrigeração, com uma lixa d'água granulação 600 (3M, 211Q, Wetordry, Ind. Bras.), em velocidade alta (600 rpm) para remoção das ondulações superficiais. Em seguida, foi feito o polimento do esmalte com lixa d'água granulação 1200 e 1500 (3M, 401Q, 3M Company, Minnesota, USA), e posteriormente com lixa d'água granulação 2000 (CP38, WET & DRY, Riken Corundum Co., Ltd., Japan), sob refrigeração e em alta velocidade (600 rpm), até que fosse obtida uma superfície de aspecto vítreo (ALENCAR, 2013; ALENCAR, 2015; ALMEIDA, 2016).

Após o corte dos dentes, planificação e polimento, os espécimes passaram a ser armazenados em refrigerador a aproximadamente 4°C (ALENCAR, 2013). Durante este período e até o final do experimento os espécimes permaneceram fixados em discos de acrílico numerados, em recipiente plástico com tampa, separados por gaze (Gless, Bio Textil Ind. e Com. Ltda., Carmo do Rio Verde, GO, Brasil) (ALENCAR, 2013; ALENCAR, 2015; ALMEIDA, 2016) embebidas em água mineral natural (500 ml, sem gás, Crystal Águas do Nordeste Ltda., Fluoretos 0,04 mg/L, pH 6,21, Maceió, AL, Brasil).

3.6 Avaliação da Dureza Superficial Inicial (SH_i)

A dureza superficial inicial dos espécimes de esmalte foi aferida por um microdurômetro (Micho hardness Tester FM-700, Future –Tech Corp., Fujisaki, Kawasaki-ku,

Japão), com um penetrador diamantado tipo *vickers*. Empregou-se uma carga estática de 100 g, aplicada por 15 segundos (PANICH; POOLTHONG, 2009; VONGSAWAN; SURARIT; RIRATTANAPONG, 2010; SOMANI *et al.*, 2014), na região central de cada espécime, sendo realizadas cinco endentações com distâncias de 100 µm entre si (ALENCAR *et al.*, 2014; ALENCAR *et al.*, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2017).

3.7 Esterilização dos Espécimes de Esmalte

Os espécimes selecionados foram numerados com caneta permanente ultra-fina (A. W. Faber-Castell S.A., São Carlos, SP, Brasil) na região da dentina interna e embalados em envelope de papel grau cirúrgico (VedaMax, Presidente Venceslau, SP, Brasil) e enviado para a esterilização por meio de óxido de etileno (Acecil Central de Esterelização Comércio e Indústria Ltda, Campinas, SP, Brasil) (ALENCAR *et al.*, 2014; JORDÃO *et al.*, 2016).

3.8 Tratamento dos Espécimes de Esmalte

Os voluntários utilizaram dispositivos intrabucais palatinos contendo dois espécimes de esmalte bovino com lesões artificiais de erosão e o tratamento foi feito com o dispositivo inserido na cavidade bucal, conforme os grupos:

Grupo 1 - Pasta de CPP-ACP a 10% (Tooth Mousse™ GC Corporation, Japan, sabor menta).

Grupo 2 - Pasta de CPP-ACP a 10% + 900ppm de Fluoreto de sódio (Tooth Mousse Plus™, GC Corporation, Japan, sabor menta).

Grupo 3 - Pasta sem CPP-ACP, contendo 900 ppm de Fluoreto de sódio (Fórmula magistral a base de água, sabor menta - Dilecta® Farmácia de Manipulação & Homeopatia, João Pessoa, Paraíba, Brasil)

Cada grupo foi conduzido em uma fase de 5 horas e a variável de resposta utilizada foi a dureza superficial (percentual de recuperação de dureza).

3.8.1 Desmineralização dos Espécimes de Esmalte

A lesão de erosão foi realizada *in vitro* pela imersão dos espécimes de esmalte em 150 ml de ácido clorídrico (Vetec Química Fina Ltda., Rio de Janeiro, Brasil) 0,01M, com o pH 2,3, sob agitação constante, durante 30 segundos. Em seguida, cada espécime de esmalte foi lavado com água deionizada a fim de cessar o processo de desmineralização (TEREZA *et al.*, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2017).

3.8.2 Avaliação da Dureza Superficial Pós-desmineralização (SHdes)

Para a avaliação da dureza superficial pós-desmineralização foi utilizado o mesmo microdurômetro com as mesmas especificações (100g por 15s) adotadas na avaliação da dureza superficial inicial. Foram feitas 5 endentações, com distância de 100 µm entre elas e a 100 µm das endentações iniciais (JORDÃO *et al.*, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2017). A média das durezas (dureza inicial do esmalte hígido e dureza pós a erosão) foi utilizada para calcular o percentual de perda de dureza de acordo com a seguinte fórmula: $[(\text{dureza inicial} - \text{dureza final}) / (\text{dureza inicial})] \times 100$ (JORDÃO *et al.*, 2016), cujos valores foram utilizados para distribuição aleatória estratificada dos espécimes de esmalte entre os voluntários e entre grupos em estudo.

3.8.3 Aleatorização dos Espécimes de Esmalte

Foi realizada a seleção planejada dos espécimes conforme os valores de dureza pós desmineralização de forma que, em todos os grupos em estudo fossem alocados espécimes com dureza mais baixa e mais alta. Posteriormente foi feita uma distribuição aleatória, utilizando-se o programa Microsoft Excel (Microsoft Press, Redmond, WA, USA). Os espécimes foram separadamente ordenados no sentido crescente de dureza e utilizando a função “aleatória” da categoria matemática, sorteios aleatórios foram realizados para dividir os espécimes entre três grupos das três etapas do estudo (ALENCAR, 2015; MENDONÇA, 2015; ALMEIDA, 2016).

3.9 Procedimentos Intrabucais

Os voluntários receberam um kit contendo uma bisnaga de dentifrício fluoretado (Total 12®, 1.250 ppm F, Colgate, Brasil), uma escova de dente (Classic clean Colgate, Brasil) e um tubo de fio dental (100m, Hillo, Brasil) para padronização dos procedimentos de higiene bucal sete dias antes do início do experimento e durante todo o período do estudo (ALENCAR *et al.*, 2014).

A cada fase do experimento o dispositivo intrabucal de cada voluntário foi entregue em estojo plástico, juntamente com a pasta correspondente à fase em estudo acondicionada em embalagem plástica fosca, sem identificação do produto, e as instruções detalhadas para realização da etapa *in situ*, que foram reforçadas verbalmente (Apêndice B). Os mesmos foram exhaustivamente treinados em todas as fases do estudo.

As três fases dessa etapa do estudo foram intercaladas com o período de 1 dia de whashout, período necessário para não interferência entre as pastas. Em cada fase, após o café da manhã e realização dos procedimentos de higiene bucal, o voluntário foi orientado

aguardar uma hora e inserir o dispositivo intrabucal contendo os espécimes previamente erodidos *in vitro*. Passadas 2 horas de uso, garantindo a formação da película adquirida (MENDONÇA *et al.*, 2017), foi feita a aplicação intrabucal da pasta fornecida em quantidade do tamanho de um grão de ervilha em cada espécime. A aplicação seguiu as recomendações do fabricante, entretanto a aplicação foi apenas tópica, ou seja, sem fricção, garantindo que a superfície amolecida e a película adquirida não fossem removidas.

Após 3 minutos da aplicação, os dispositivos intrabucais foram reinsertados na boca, e somente após 3 horas de uso (tempo de substantividade das pastas) (POGGIO *et al.*, 2013; REEMA; LAHIRI; ROY, 2014), foram removidos, envoltos em gaze embebidas em água mineral (Crystal Águas do Nordeste Ltda., Fluoretos 0,04 mg/L, pH 6,21, Maceió, AL, Brasil), e devolvidos ao pesquisador.

3.10 Avaliação da Dureza Superficial Pós-Remineralização (SHre) e Cálculo do Percentual de Recuperação de Dureza (%SHR)

Para a avaliação da dureza superficial pós remineralização, foi utilizado o mesmo microdurômetro com as mesmas especificações, foram feitas 5 endentações, com distância de 100 µm entre elas e a 100 µm das endentações pós erosão. A média das durezas (dureza pós erosão e dureza pós-remineralização) foi utilizada para avaliar o percentual de recuperação de dureza de acordo com a seguinte fórmula: $[(\text{dureza final} - \text{dureza pós-desmineralização}) / (\text{dureza inicial} - \text{dureza pós-desmineralização})] \times 100$.

3.11 Análise Estatística

Inicialmente foi verificada a normalidade e homogeneidade dos dados referentes ao percentual de recuperação de dureza, por meio do teste Shapiro-Wilk. Uma vez que os dados apresentaram distribuição normal, foram analisados através do teste ANOVA one way.

O nível de significância (p) adotado em todos os testes foi de 5% e o software utilizado foi o SPSS (versão 18.0 para Windows, IBM Corp., Armonk, NY, USA) versão 18.0.

3.12 Aspectos Éticos

O presente estudo foi registrado na Plataforma Brasil, e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), sob CAAE 57770916.4.0000.5187 (ANEXO A) conforme as determinações da Resolução 466/12

CNS/MS (BRASIL, 2012), a qual regulamenta a ética da pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil.

3.12.1 Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Os voluntários que aceitaram participar do estudo assinaram o TCLE (Apêndice C).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios das durezas finais e pós erosão apresentaram diferenças estatisticamente significativas para as três pastas testadas (Tabela 1), logo as pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF apresentaram efeito reendurecedor do esmalte amolecido, porém sem diferença entre elas (Tabela 2).

Tabela 1. Médias e desvios-padrão das durezas superficiais pós-desmineralização (SH_{des}), pós-remineralização (SH_{re}) de acordo com as fases experimentais.

Grupos	SH_{des} - KgF/mm ²	SH_{re} - KgF/mm ²	Valor de p^*
G1 CPP-ACP (n=12)	299,24 ($\pm 20,03$)	336,55 ($\pm 22,03$)	0,003
G2 CPP-ACPF (n=12)	295,19 ($\pm 50,55$)	314,29 ($\pm 45,96$)	0,007
G3 Placebo (n=10)	306,40 ($\pm 37,44$)	316,98 ($\pm 41,34$)	0,006
Valor de p^{**}	0,790	0,307	

* Teste T para amostras pareadas. ** Teste ANOVA oneway.

Tabela 2. Média, desvios-padrão e percentual de recuperação de durezas superficiais pós-remineralização, de acordo com os grupos experimentais.

Grupos	Recuperação de dureza	Percentual
G1 CPP-ACP (n=12)	37,31 ($\pm 33,53$)	10,64 ($\pm 9,12$)
G2 CPP-ACPF (n=12)	19,10 ($\pm 19,90$)	6,29 ($\pm 7,20$)
G1 Placebo (n=10)	10,58 ($\pm 9,42$)	3,19 ($\pm 2,72$)
Valor de p^*	0,036	0,060

* Teste ANOVA oneway.

Cáries dentárias (SOUZA, 2015; CASTINHO, 2017) e erosão (SHITSUKA, 2015; DINIZ; LUSSI, 2017; MENDONÇA, 2016; OLIVEIRA, 2015), são os dois maiores

problemas dentários em crianças e adolescentes. Entre os vários tipos de tratamento dentário para a erosão, o nanocomplexo de caseína de fosfopéptidos estabilizado por fosfato de cálcio amorfo foi postulado como um agente remineralizante da estrutura dentária devido à sua capacidade comprovada de aumentar níveis de cálcio e fosfato salivares (REYNOLDS, 2003).

O CPP-ACP pode ser disponibilizado no meio bucal por meio de várias formulações, e a utilização de pastas com base neste nanocomplexo tem demonstrado ser promissor no controle da erosão dentária (FERNANDES, 2017). Nesta perspectiva, o presente estudo avaliou a utilização de pastas contendo CPP-ACP (suplementado ou não por flúor) comparada com uma pasta placebo. Usando o protocolo *in situ*, foi possível aceitar a inicialmente formulada hipótese nula, o uso de CPP-ACP e as pastas CPP-ACPF permitiram a recuperação da dureza equivalente a pasta de placebo.

O protocolo de tratamento *in situ* a curto prazo adaptado para avaliar os efeitos dos produtos na fase inicial da erosão tem também a vantagem de favorecer a adesão de voluntários na condução do protocolo de tratamento proposto (ALENCAR, 2016). A primeira fase de desenvolvimento da lesão erosiva é caracterizada pela redução da dureza da camada superficial (KANZOW, 2016; MATHEW, 2018), portanto a variação da dureza superficial foi utilizada neste estudo para medir o efeito da aplicação de pastas CPP-ACP sobre a recuperação da dureza do esmalte desmineralizado.

O ácido clorídrico, simulando o ácido presente no suco gástrico, foi utilizado por outros autores (KENSCHKE, 2016) para simular a erosão. Além disso, foram localizadas as primeiras edentações após o desafio erosivo e após o passo *in situ* a fim de garantir a ausência de desgaste erosivo, ou seja, que a superfície avaliada no início fase e no final do estudo fossem semelhantes (ALENCAR, 2014).

O CPP-ACP pode ser disponibilizado em diferentes tipos de veículos, comgoma de mascar (ALENCAR, 2014) e pasta de aplicação tópica¹. No entanto, outras formas também são estudadas, como na solução⁴⁰ e acrescentadas a composições de bebidas (FERRAZZANO, 2012). No entanto, a utilização de pasta como um veículo de biodisponibilidade para CPP-ACP parece ser a melhor forma, uma vez que a sua concentração é maior nessa formulação (7,5% na pasta de CPP-ACP a 10% e na pasta CPP-ACPF com 10% de flúor + 900 ppm de flúor), e o contato direto permitido pela aplicação tópica provavelmente favorece a sua ação.

A maioria dos estudos sobre a utilização de pastas CPP-ACP no controle da erosão dentária têm sido conduzidos em abordagens estritamente laboratoriais (WANG, 2014; TURSSI, 2011; TANTBIROJN, 2008; POGGIO, 2013), onde a saliva e o biofilme adquirido, que são elementos cruciais na dinâmica erosiva, não estão presentes (LUSSI; CARVALHO, 2014). Alguns estudos têm mostrado resultados promissores com a utilização de pastas com CPP-ACP (SRINIVASAN, 2010).

No presente estudo, as três pastas utilizadas resultaram em uma otimização significativa no processo de remineralização, em comparação com o período inicial. Contudo, não foi observada qualquer diferença entre CPP-ACP, CPP-ACPF e pastas de controle. Possivelmente, esta descoberta é o resultado do efeito salivar, que como já estabelecido na literatura, tem um papel importante na redução do desgaste dos dentes frente a um ataque erosivo/abrasivo (AMAECHI; HIGHAM, 2001). Além de ser capaz de proteger a estrutura dentária de erosão através da sua capacidade de amortecimento, lavagem e inibição da desmineralização, a saliva também tem o potencial para voltar a remineralizar o esmalte erodido, proporcionando cálcio, fosfato e flúor necessários para precipitação mineral (BAUMANN, *et al.*, 2016).

Deve ser salientado que este estudo seguiu as recomendações presentes na literatura, situação clínica parecidas com a natural, e, portanto, fornece informação pertinentes para a realidade do ambiente oral. No entanto, por ser um teste de curta duração, não se pode inferir sobre a eficácia dos grupos testados frente a fases avançadas de erosão. Por conseguinte, sugere-se que a ação das pastas CPP-ACP e CPP-ACPF sobre o desgaste erosivo deve ser avaliado em estudos de ciclos erosivos.

5 CONCLUSÃO

As pastas de CPP-ACP, suplementadas ou não pelo fluoreto, não demonstraram eficácia superior em reendurecer o esmalte amolecido, em relação à pasta placebo.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, C. R. B. Efeito in situ da utilização de uma goma de mascar com caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) previamente ao desafio erosivo inicial. Bauru, 2015. 113p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- ALENCAR, C. R. B. Efeito in situ de uma goma de mascar contendo caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) na erosão dentária. Bauru, 2013. 155p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- ALENCAR, C. R. B.; MAGALHÃES, A. C.; MACHADO, M. A. A. M. *et al.* In situ effect of a commercial cpp-acp chewing gum on the human enamel initial erosion. **J. Dent.**, Guildford, v. 42, n. 11, p. 1502-7, nov., 2014.
- ALENCAR, C. R. B.; MENDONÇA, F. L.; GUERRINI LB. *et al.* Effect of different salivary exposure times on the rehardening of acid-softened enamel. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 1-7, out., 2016.
- ALMEIDA, M. C. J. Estabelecimento dos Protocolos in vitro e in situ para Estudos de Erosão Dentária. Bauru, 2016. 122p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- AMAECHEI, B. T.; HIGHAM, S. M. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. **J. Dent.**, Guildford v. 33, n. 3, p. 243-52, mar., 2005.
- BAUMANN, T.; KOZIK, J.; LUSSIA, A.; CARVALHO, T. S. Erosion protection conferred by whole human saliva, dialysed saliva, and artificial saliva. **Sci Rep.**, v. 6, n. 34760, p.1-8, 2016.
- BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução 466/12. Disponível em: <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>>. Acesso em 09 de maio de 2017.
- BUZALAF, M. A.; HANNAS, A. R.; KATO, M. T. Saliva and dental erosion. **J. Appl. Oral Sci.**, Bauru, v. 20, n. 5, p. 493-502, set./out., 2012.
- CASTINHO, L. S.; ABREU, M. H. N. G.; PAULA, L. F.; SOUZA E SILVA, M. E.; RESENDE V. L. S. Oral health status among girls with developmental disabilities: A cluster analysis. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr.**, v. 17, n.1, p. 1-7, 2017.
- DINIZ, M. B.; LUSSI, A. Dental Erosion in Pediatric Dentistry: What is the Clinical Relevance. **Pesqui. bras. odontopediatria clín. integr.**, João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 1-2, 2017.
- FERNANDES, L. H. F.; MOURA, E. F. F.; AIENCAR, C. R. B.; CAVALCANTI, A. L. Use of pastes containing caseinamorphous calcium phosphate with and without fluoride in the prevention of dental erosion: A literature review. **Arch Health Invest.**, v. 6, n. 11, p. 513-8, 2017.

- FERRAZZANO, G. F.; CODA, M.; CANTILE, T, SANGIANANTONI, G.; INGENITO, A. investigation on casein phosphopeptides capability in contrasting cola drinks enamel erosion: An in vitro preliminary study. **Eur J Paediatr Dent.**, n. 13, v. 4, p 285-8, 2012.
- GENKINS, G. N.; FERGUSON, D. B. Milk and dental cáries. **Brit. Dent J.**, v.120 p.472-477 maio, 1966.
- HAMBA, H.; NIKAIDO, T.; INOUE, G. *et al.* Effects of cpp-acp with sodium fluoride on inhibition of bovine enamel demineralization: a quantitative assessment using micro-computed tomography. **J. Dent.**, Guildford v. 39, n. 6, p. 405-13, jun., 2011.
- HUYSMANS, M. C.; CHEW, H. P.; ELLWOOD, R. P. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. **Caries Res.**, Basel, v. 45, Suppl. 1, p. 60-8, maio, 2011.
- HUYSMANS, M. C.; YOUNG, A.; GANSS, C. The role of fluoride in erosion therapy. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 25, p. 230-43, jun., 2014.
- JAYARAJAN, J.; JANARDHANAM, P.; JAYAKUMARP, P.; DEEPIKA. Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization – na in vitro study using scanning electron microscope and DIAGNOdent. **Indian J Dent RES.** Índia, pág 77-82, jan./fev., 2011
- JORDÃO, M. C.; ALENCAR, C. R.; MESQUITA, I. M. *et al.* In situ Effect of Chewing Gum with and without CPP-ACP on Enamel Surface Hardness Subsequent to ex vivo Acid Challenge. **Caries Res.**, Basel, v. 50, n. 3., p. 325-30, maio, 2016.
- KANZOW, P.; WEGEHAUPT, F. J.; ATTIN, T. *et al.* Etiology and pathogenesis of dental erosion. **Quintessence Int.**, Berlin, v. 47, n. 4, p. 275-8, abr., 2016.
- KENSCHKE, A.; POTSCHEKE, S.; HANNIG, C.; RICHTER, G.; HORH-HANNING, W.; HANNING, M. Influence of calcium phosphate and apatite containing products on enamel erosion. **Scientific World Journal.**, v. 2016, n. 7959273, p.1-12, 2016.
- KUMAR, V. L.; ITTHAGARUN, A.; KING, N. M. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v. 53, n. 1, p. 34-40, mar., 2008.
- LUSSI, A.; JAEGGI, T. Erosion-diagnosis and risk factors. **Clin Oral Investiga.**, p. 5-13, mar., 2008.
- LUSSI, A.; JAEGGI, T.; ZERO, D. The role of diet in the etiology of dental erosion. **Caries Res.**, Basel, v. 38, Suppl. 1, p. 34-44, jan., 2004.
- MATHEW, S.; LUKE, A. M.; WALIA, T.; MASRI, A. G.; JAMAL, H.; PAWAR, A. M. Effect of fruit juices and other beverages on loss of tooth structure. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr.**, v. 18, n. 1, p. 1-9, 2018.
- MENDONÇA, F. L. Remineralização e Desmineralização Erosiva do Esmalte Considerando Diferentes Tempos de Ação Salivar e Dispositivos Intrabuciais – estudos in situ. Bauru, 2015. 133p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

- MENDONÇA, F. L.; JORDÃO, M. C.; IONTA, F. Q. *et al.* In situ effect of enamel salivary exposure time and type of intraoral appliance before an erosive challenge. **Clin. Oral Investig.**, Berlin, jan., 2017, doi: 10.1007/s00784-016-2043-5.
- OLIVEIRA, P. A. D.; PAIVA, S. M.; COSTA, M. L. G.; ABREU, M. H. N. G.; CARVALHO, S. D.; AUAD, S. M. Dental erosion in Brazilian children with gastroesophageal reflux disease. **Braz Res Pediatr Dent Integr Clin.**, v. 15, n. 1., p. 227-34, 2015.
- PANICH, M.; POOLTHONG, S. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and a cola soft drink on in vitro enamel hardness. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 140, n. 4, p. 455-60, abril, 2009.
- POGGIO, C.; LOMBARDINI, M.; VIGORELLI, P. *et al.* Analysis of dentin / enamel remineralization by a CPP-ACP paste: AFM and SEM study. **Scanning**, Hoboken, v. 35, n. 6, p. 366-74, nov./dez., 2013.
- PRESTES, L.; SOUZA, B. M.; COMAR, L. P. *et al.* In situ effect of chewing gum containing cpp-acp on the mineral precipitation of eroded bovine enamel- a surface hardness analysis. **J. Dent.**, Guildford, v. 21, n. 8, p. 747-51, ago., 2013.
- REEMA, S. D.; LAHIRI, P. K.; ROY, S. S. Review of casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate. **Chin. J. Dent. Res.**, Inglaterra, v. 17, n. 1, p. 7-14, 2014.
- REYNOLDS, E. C. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. **Adv. Dent Res.**, Washington, v. 21, n. 1, p. 29-29, ago., 2009.
- ROSE, R. K. Effects of anticariogênico casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal modern dental plaque. **Arch ORAL Biol.** V. 45, n. 7, p. 569-575, 2000.
- SHELLIS, R. P.; ADDY, M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 25, p. 32-45, jun., 2014.
- SHITSUKA, C.; CORRÊA, M. S. N. P.; DUARTE, D. A.; LEITE, M. F. Quantification of dental biofilm in children with dental erosion. **Braz Res Pediatr Dent Integr Clin.** v. 15, n.1, p. 95-101, 2015.
- SOMANI, R.; JAIDKA, S.; SINGH, D. J. *et al.* Remineralizing potential of various agents on dental erosion. **J. Oral Biol. Craniofac. Res.**, Amsterdã, v. 4, n. 2, p. 104-8, maio/ago. 2014.
- SOUZA, B. C. Erosão dentária em paciente atleta: artigo de revisão. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro v. 74, n. 2., p. 155-161 abr-jun., 2017.
- SRINIVASAN, N.; KAVITHA, M.; LOGANATHAN, S. C. Comparison of the remineralization potential of cpp-acp and cpp-acp with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: an in situ study. **Arch Oral Biol.**, Oxford, v. 55, n. 7, p. 541-4, jul., 2010.
- TANTBIROJN, D.; HUANG, A.; ERICSON, M. D. *et al.* Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a cpp-acp paste. **J. Dent.**, Guildford, v. 36, n. 1, p. 74-9, jan., 2008.

TEREZA, G. P.; DE OLIVEIRA, G. C.; MACHADO, M. A. A. M. *et al.* Influence of removing excess of resin-based materials applied to eroded enamel on the resistance to erosive challenge. **J. Dent.**, Guildford, v. 47, n. 1, p. 49-54, abril, 2016.

TURSSI, C. P.; MAEDA, F. A.; MESSIAS, D. C. *et al.* Effect of potential remineralizing agents on acid softened enamel. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v. 24, n. 3, p. 165-8, jun., 2011.

VANICHVATANA, S.; AUychAI, P. Efficacy of two calcium phosphate pastes on the remineralization of artificial caries: a randomized controlled double-blind in situ study. **Int. J. Oral Sci.**, Sichuan, v. 5, n. 4, p. 224-8, dez., 2013.

VONGSAWAN, K.; SURARIT, R.; RIRATTANAPONG, P. The Effect of High Calcium Milk And Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate on Enamel Erosion Caused By Cholinated Water. **Asian J. Trop. Med. Public Health**, Bangkok, v. 41, n. 6, p. 1494-9, nov., 2010.

WANG, C. P.; HUANG, S. B.; LIU, Y. *et al.* The cpp-acp relieved enamel erosion from a carbonated soft beverage: an in vitro afm and xrd study. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 59, n. 3, p. 277-82, mar., 2014.

ZAWAIDEH, F. I.; OWAIS, A. I.; MUSHTAHA, S. Effect of CPP-ACP or a Potassium Nitrate Sodium Fluoride Dentifrice on Enamel Erosion Prevention. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, Birmingham, v. 41, n. 2, p. 135-40, 2017.

APÊNDICE A – FORMULÁRIO PARA SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES**Anamnese**

Nome: _____ Idade: _____

Sexo: () masculino () feminino

 Fumante ATF - 2 últimas semanas Uso de medicamentos que alteram o fluxo salivar - 2 últimas semanas antidepressivos narcóticos diuréticos anti-histamínicos Já foi submetido à irradiação/quimioterapia Pratica atividades aquáticas em piscina clorada Presença de doenças sistêmicas auto-imune xerostomia diabetes tipo 1 má nutrição problemas gastro-esofágicos distúrbios de regurgitação e vômito

Boa saúde geral: ()sim ()não

Exame clínico Presença de cárie ativa Presença de erosão ativa Presença de desgaste dentário acentuado Uso de prótese/aparelho

Boa saúde bucal: ()sim ()não

Padrão salivar

Ph salivar: _____

Fluxo salivar estimulado: _____

Fluxo salivar não estimulado: _____

Voluntário: () Apto () Não Apto

APÊNDICE B - INSTRUÇÕES GERAIS PARA OS PARTICIPANTES

Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Curso 10.60 - Odontologia – Campina Grande

Voluntário_____

EFEITO *IN SITU* DA APLICAÇÃO INTRA-ORAL DE CPP-ACP E CPP-ACPF NA EROÇÃO DENTÁRIA

Você está recebendo, para padronização dos procedimentos bucais:

- 1 Dentifrício fluoretado (Total 12®, 1.250 ppm F, Colgate, Brasil);
- 1 escova de dente;
- 1 tubo de fio dental.

Estes itens devem ser utilizados sete dias antes do início do experimento e durante todo período

do estudo.

No dia do início do experimento, você receberá o primeiro dispositivo intrabucal em um estojo plástico, juntamente com a pasta correspondente à fase em estudo acondicionada em embalagem plástica fosca.

O estudo é composto por três fases (uma fase por dia, com um dia de descanso entre cada uma delas). Você deverá solicitar a utilizar um dispositivo intrabucal palatino (um para cada fase) contendo dois espécimes de esmalte bovino (esterilizados com óxido de etileno), onde serão aplicados os tratamentos, conforme os grupos/fases:

Grupo I. Tratamento A

Grupo II. Tratamento B

Grupo III. Tratamento C

1. Em cada fase, após o café da manhã e realização dos procedimentos de higiene adequados (realizados com os itens do kit), deve-se aguardar 1 hora para inserir o dispositivo intrabucal.

2. Após 2 horas de uso (para formação da película adquirida), aplique a pasta fornecida com o seu dedo limpo e seco nos espécimes, com o aparelho inserido na boca, na quantidade fornecida e deixe agir por 3 minutos (pode aguardar os 3 minutos com a boca fechada, entretanto evite passar a língua nos espécimes com pasta, não engolir, nem cuspir durante esses 3 minutos);

A aplicação será apenas tópica, sem fricção!

3. Após 3 minutos da aplicação, cuspa à vontade (com o aparelho na boca) e deixe a boca sem enxaguar.

4. Use o dispositivo durante mais 3 horas (passar os 30 minutos iniciais sem beber água); remova-o e envolva em gaze embebidas com a água fornecida e coloque-o no estojo fornecido (não tocar nos espécimes).

Este procedimento será realizado por um dia.

* Pode ser guardado na geladeira até a entrega.

* Durante o uso do aparelho, nenhum tipo de alimento ou bebida poderá ser ingerido, exceto água.

*Não escovar o aparelho.

Caso haja dúvida entrar em contato:

Cibele Prates, email: belleprates@hotmail.com, whatsapp: (77) 991725762.

APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Universidade Estadual da Paraíba
Projeto de Iniciação Científica

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada: EFEITO DA APLICAÇÃO DE PASTAS DE CPP-ACP E CPP-ACPF ANTES E APÓS DESAFIO EROSIVO DE CURTA DURAÇÃO: ESTUDO IN SITU, sob minha responsabilidade, Cibele da Cruz Prates, Liege Helena Freitas Fernandes, da professora Dra. Catarina Ribeiro Barros de Alencar e do professor orientador Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti. Esse estudo tem como objetivo avaliar o efeito in situ da aplicação intrabucal de pastas contendo caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) e caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo associada ao flúor (CPP-ACPF) sobre a erosão do esmalte de dentes permanentes bovinos, mediante teste de dureza superficial. A caseína é uma proteína derivada do leite que apresenta comprovado potencial de remineralização (reposição de minerais perdidos) da estrutura dentária e tem sido estudada na odontologia para promover a inibição da cárie e prevenir a erosão dentária. Atualmente a erosão tem ocorrido com frequência na população e é provocada pelo contato frequente de ácido com os dentes, esse ácido pode se originar do próprio organismo, ou da alimentação (comidas e bebidas ácidas) e não tem relação com bactérias. Assim sendo, várias medidas preventivas têm sido estudadas para aumentar a resistência do dente à erosão. Desta forma, iremos confeccionar aparelhos sem grampos metálicos para serem usados no palato (céu da boca) e neles serão fixados pedaços de dentes bovinos, previamente esterilizados. Estes aparelhos não aparecerão (são estéticos) e não machucarão a boca, no entanto dependendo da sensibilidade individual poderão causar desconforto passageiro e dificuldade na pronúncia das palavras até a adaptação. Valendo ressaltar que os aparelhos serão utilizados descontinuamente e por apenas 5 minutos na primeira fase e duas horas na segunda fase, não alterando sua qualidade de vida ou rotina. O uso deste aparelho é importante pois permite, a nós pesquisadores, simular os eventos que ocorrem na boca de forma fiel, sem trazer nenhum efeito colateral aos dentes dos voluntários. Essa pesquisa será realizada em 1 etapa. A etapa contém 3 fases e cada fase é de apenas um dia. Em ambas as etapas você terá que usar aparelhos com 2 espécimes de esmalte bovino previamente esterilizados, fazer aplicação das pastas estudadas, lavar em água de abastecimento e guardar os dispositivos (seguindo os protocolos específicos de cada etapa), que serão recolhidos pelo pesquisador. Durante esse período serão fornecidos pelo pesquisador escova de dente, fio dental e creme dental padronizados para que você realize sua higiene bucal. Não existe benefício específico para os voluntários, pois os benefícios serão para a população em geral, caso se chegue à conclusão de que a terapia testada é eficaz para a prevenção do desenvolvimento da erosão, após estudos clínicos. Cabe ressaltar, que não haverá gasto nenhum, para nenhum dos voluntários envolvidos na pesquisa, todo o material necessário será fornecido pelo pesquisador. Esclarecemos que os senhores têm inteira liberdade em aceitar ou não o convite, assim como desistir a qualquer momento sem nenhum prejuízo. Os dados individuais serão mantidos sob sigilo absoluto, antes, durante e após o término do estudo. Porém, os resultados da pesquisa poderão ser apresentados em congressos e publicações científicas, contribuindo, assim, para produção de ciência. Em caso de dúvidas sobre o estudo você receberá maiores informações com Cibele da Cruz Prates, através do telefone (77)9-9172.5762 ou através do e-mail: belleprates@hotmail.com, ou do endereço: Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Odontologia – Avenida das Baraúnas, s/n, Bodocongó, 58109-753 – Campina Grande, PB.

Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa, localizado no 2º andar, sala 214, Prédio Administrativo da Reitoria da Universidade Estadual da Paraíba. Consentimento Livre e Esclarecido Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr.(a) _____, portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa das informações constantes neste TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, devidamente explicadas pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta. Por estar de acordo assina o presente termo, juntamente com o pesquisador, em duas vias de igual teor, ficando uma via sob seu poder e outra em poder do pesquisador, que serão também rubricadas em todas as páginas.

Campina Grande, ____ de _____ de _____.

Pesquisador Responsável

Orientador

Sujeito da Pesquisa

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISADOR
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
PLATAFORMA BRASIL



Título da Pesquisa: EFEITO DA APLICAÇÃO DE PASTAS DE CPP-ACP E CPP-ACPF ANTES E APÓS DESAFIO EROSIVO DE CURTA DURAÇÃO; ESTUDO IN SITU.

Pesquisador Responsável: Liege Helena Freitas Fernandes

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti.

Co-Orientador: Profa. Dra. Catarina Ribeiro Barros de Alencar

CAAE: 57770916.4.0000.5187

SITUAÇÃO DO PROJETO: APROVADO.

Data da relatoria: 13/07/2016

Apresentação do Projeto: Projeto intitulado "EFEITO DA APLICAÇÃO DE PASTAS DE CPP-ACP E CPP-ACPF ANTES E APÓS DESAFIO EROSIVO DE CURTA DURAÇÃO; ESTUDO IN SITU", encaminhado para análise, ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba, com fins à obtenção de parecer favorável ao início das atividades propostas, as quais resultarão em Trabalho de Conclusão de Curso de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Estadual da Paraíba – campus I. A erosão dentária é caracterizada pela perda irreversível de tecido dental duro, ocasionada por ácidos não bacterianos de origem intrínseca ou extrínseca. Nos últimos anos, diferentes agentes têm sido avaliados como potenciais alternativas no combate à erosão, dentre os quais o complexo de caseína fosfopéptido - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP). A biodisponibilização do CPP-ACP no ambiente bucal pode ocorrer por meio de diferentes veículos, como adicionado às bebidas erosivas, em solução, em goma de mascar e em pastas ou mousses. As pastas contendo CPP-ACP, associadas ou não ao fluoreto (CPP-ACPF) têm demonstrado potencial anti-erosivo ainda não completamente elucidado. Diante disso, será realizado um estudo *in situ* de duas etapas com o objetivo de analisar o efeito da aplicação intrabucal das pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF na precipitação

mineral de lesões iniciais de erosão e na prevenção da erosão (amolecimento) do esmalte. Para isso, espécimes de esmalte bovinos serão divididos aleatoriamente em quatro grupos de tratamento: GI. Pasta de CPP-ACP, GII. Pasta de CPP-ACPF, GIII. Pasta fluoretada e GIV. Pasta placebo, sem CPP-ACP e sem fluoreto. No subprojeto I os espécimes de esmalte serão selecionados pela dureza da superfície (SHi), erodidos *in vitro* pela imersão em Coca Cola® por 3 minutos (SHdes1) e randomizados entre os grupos de tratamento e entre os voluntários, que aplicarão o tratamento sobre os espécimes e utilizarão o dispositivo intrabucal palatino por 2 horas, em quatro fases cruzadas, intercaladas com um período de 1 dia de *whashout*. Após isso, a dureza superficial (SHre) será aferida para estimativa do potencial de re-endurecimento do esmalte amolecido promovido pelos tratamentos. Em seguida, estes espécimes serão submetidos a novo desafio erosivo (Coca Cola®, 3 minutos) e a dureza superficial será reavaliada (SHdes2), a fim de avaliar o quanto o esmalte erodido e tratado é resistente a um desafio erosivo subsequente. No subprojeto II, em cada uma das 4 fases cruzadas correspondentes aos grupos em estudo, os voluntários utilizarão o dispositivo intrabucal contendo espécimes de esmalte selecionados pela dureza superficial inicial (SHi) por 2 horas e em seguida aplicarão as pastas, previamente à formação da lesão de erosão artificial, que será produzida *in vitro*. Após isso, a dureza superficial final (SHf) será aferida, para averiguação do potencial inibidor das pastas contra a desmineralização erosiva do esmalte. Os dados serão analisados por meio de estatística inferencial, através do software SigmaPlot for Windows 4 version 11.0 (Germany). Espera-se que as pastas testadas possuam efeito protetor e reparador sobre lesões iniciais de erosão dentária, tomando a superfície tratada mais resistente à desmineralização.

Objetivo Geral da Pesquisa: Analisar o efeito *in situ* da aplicação intrabucal de pastas contendo CPP-ACP e CPP-ACPF na precipitação mineral em lesões iniciais de erosão e na prevenção de erosão no esmalte bovino, usando a dureza superficial (amolecimento) como variável resposta.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: Conforme a RESOLUÇÃO 466/12, do CNS/MS, toda pesquisa com seres humanos envolve riscos com graus variados. Segundo o pesquisador responsável, no protocolo enviado para a Plataforma Brasil, **Riscos e Benefícios:** "Não existem riscos diretos ao voluntário da pesquisa, visto que o desafio erosivo é feito fora da boca (o refrigerante não entra em contato com os dentes) e as pastas utilizadas encontram-se comercialmente disponíveis, o que significa que já foram testadas e aprovadas. O que se evidencia é apenas um possível desconforto e certa dificuldade na pronúncia das palavras quando do início do uso dos dispositivos intrabucais, que se torna praticamente irrelevante frente ao curto período de tempo em que o dispositivo será utilizado em cada fase do estudo." Os benefícios decorrentes do estudo são para a comunidade científica ao passo que o estudo permitirá esclarecer a eficácia de uma estratégia de prevenção que vem sendo apontada ora como positiva ora como indiferente ao controle da erosão dentária. E para a população em geral, caso se chegue à conclusão de que a terapia testada é eficaz para a prevenção do desenvolvimento da erosão, após estudos clínicos. Não existem benefícios diretos ao voluntário, exceto pela realização do exame clínico e profilaxia dentária na fase de seleção dos voluntários.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: Trata-se de um estudo *in situ*, do tipo cruzado e duplo-cego com desenho aleatório. Será dividido em dois subprojetos de acordo com os objetivos apresentados. Inicialmente será descrita a metodologia empregada para execução dos procedimentos preliminares de preparação dos espécimes de esmalte, seleção dos voluntários e confecção dos dispositivos intrabucais palatinos, comuns aos dois subprojetos e em seguida serão detalhadas as particularidades de cada etapa do estudo. Participarão jovens, com idade entre 18 e 35 anos, alunos de iniciação científica do curso de odontologia e da pós-graduação em odontologia da Universidade Estadual da Paraíba serão selecionados para participar da pesquisa, por pressupor-se um maior comprometimento de tais alunos no cumprimento rigoroso dos protocolos propostos. Os participantes serão submetidos a um exame clínico, realizado com espátula de madeira sob luz natural, para detecção de cárie ativa e/ou desgaste dentário. A fim de incluir no estudo indivíduos com padrões salivares semelhantes, serão realizados testes salivares de pH e fluxo estimulado e não estimulado. Todas as coletas de saliva serão realizadas ao final da tarde, com a orientação aos voluntários para ficarem em jejum nas duas horas que antecederem a coleta (Apêndice B). Será realizada uma profilaxia profissional nos voluntários selecionados, fazendo uso de taça de borracha, escova de Robinson e pasta profilática. A presente proposta de estudo é de suma importância quanto papel e atribuições das Instituições de Ensino Superior (IES), estando dentro do perfil das pesquisas de construção do ensino-aprendizagem significativa, perfilando a formação profissional baseada na tríade conhecimento-habilidade-competência, preconizada pelo MEC. Portanto, tem retorno social, caráter de pesquisa científica e, contribuição na formação de profissionais da área de saúde. O projeto encontra-se completo, sem pendências.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Ao analisar os documentos necessários para a integração do protocolo científico, encontramos a Folha

de Rosto, o Formulário de entrega do Projeto de Pesquisa ao CEP-UEPB, o Termo de Compromisso do Pesquisador Responsável em cumprir os Termos da Resolução 466/12/CNS/MS, a Declaração de Concordância com Projeto de Pesquisa, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o Termo de Autorização Institucional, o Formulário para Seleção dos Participantes (anamnese), as Instruções Gerais para os participantes. Estando tais documentos em harmonia com as exigências preconizadas pela Resolução 466/12/CNS/MS.

Recomendações: Os tópicos do projeto encontram-se bem articulados, havendo toda uma harmonia entre eles.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: O projeto atende as exigências protocolares. Diante do exposto, somos pela aprovação. Salvo melhor juízo.

Campina Grande, 13 de julho de 2016.



Prof. Dr. Marcelo de O. Costa
Coordenador CEP-UEPB