



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**EFEITO *IN SITU* DA APLICAÇÃO DE PASTAS DE CPP-ACP E CPP-ACPF
PREVIAMENTE A UM DESAFIO EROSIVO DE CURTA DURAÇÃO**

LIEGE HELENA FREITAS FERNANDES

CAMPINA GRANDE - PB

2017

LIEGE HELENA FREITAS FERNANDES

**EFEITO *IN SITU* DA APLICAÇÃO DE PASTAS DE CPP-ACP E CPP-ACPF
PREVIAMENTE A UM DESAFIO EROSIVO DE CURTA DURAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

ORIENTADOR: PROF. DR. ALESSANDRO LEITE CAVALCANTI

COORIENTADORA: PROF^a. DR^a. CATARINA RIBEIRO BARROS DE ALENCAR

CAMPINA GRANDE - PB

2017

É expressamente proibida 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 da dissertação.

F363e Fernandes, Liege Helena Freitas.

Efeito in situ da aplicação de pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF previamente a um desafio erosivo de curta duração [manuscrito] / Liege Helena Freitas Fernandes. - 2017.
78 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação: Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti, Departamento de Odontologia".

1. Erosão dentária. 2. Esmalte dentário. 3. Caseínas. 4. Fluoreto de sódio. I. Título.

21. ed. CDD 617.634

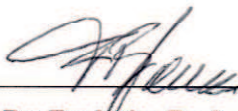
LIEGE HELENA FREITAS FERNANDES

**EFEITO *IN SITU* DA APLICAÇÃO DE PASTAS DE CPP-ACP E CPP-ACPF
PREVIAMENTE A UM DESAFIO EROSIVO DE CURTA DURAÇÃO**

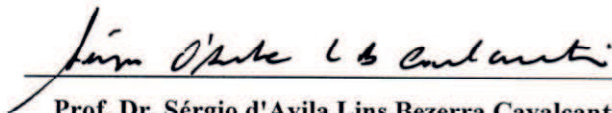
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

DATA DA DEFESA: 26/07/2017

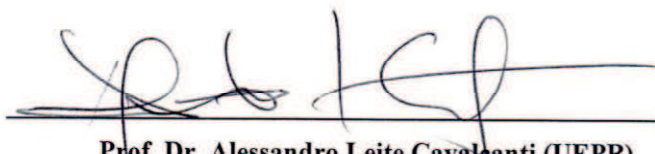
BANCA EXAMINADORA



**Prof. Dr. Frederico Barbosa de Sousa (UEPB)
MEMBRO TITULAR (1º EXAMINADOR)**



**Prof. Dr. Sérgio d'Avila Lins Bezerra Cavalcanti (UEPB)
MEMBRO TITULAR (2º EXAMINADOR)**



**Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti (UEPB)
MEMBRO TITULAR (ORIENTADOR)**

Para minha irmã, Paula Vanessa Freitas Fernandes (*in memoriam*), o meu anjo de luz.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, Maria Girlene e Leovegildo Fernandes

Por estarem sempre ao meu lado, por me apoiarem em cada decisão, pelo incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Vocês me deram segurança para vencer as dificuldades nas diferentes fases desse trabalho, sendo o meu sustento nas horas em que achei que não seria capaz. Obrigada por todo o investimento que fizeram na minha educação e pelo imensurável esforço para minhas realizações profissionais, essa é a maior herança que podem me deixar. Obrigada por não medirem esforços pela minha felicidade e sobretudo por entenderem minha ausência, mesmo quando mais precisaram de mim. Vocês são o meu maior exemplo e a minha grande razão de prosseguir. Sou eternamente grata por tudo fazem por mim, devo tudo a vocês e os amo infinitamente.

Ao meu orientador, Professor Alessandro Cavalcanti

Agradeço por ter a oportunidade de ser sua aluna, por trabalharmos juntos desde os primeiros períodos da graduação, por acreditar em mim, pela atenção e pela confiança em mim depositada. Obrigada por me incentivar a ingressar na pós-graduação, se não fosse pelo seu estímulo certamente não estaria conquistando essa vitória hoje. Obrigada mais uma vez por ver mim um potencial que nem eu mesma acreditava e por me encorajar a novos desafios sempre. O senhor é um exemplo como profissional e pessoa, a quem eu admiro muito. Tenho muito orgulho de ser sua aluna. Gratidão!

Minha sincera gratidão!

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, o Senhor da minha vida, por ter me permitido chegar até aqui. Pela força e coragem durante toda essa caminhada, por me abençoar muito mais do que mereço. Por nunca ter soltado da minha mão e por ter me levantado todas as vezes em que caí. Para Ele são todas as coisas. Em tudo, Deus!

Ao PPGO e a todos que o fazem, por terem feito parte do meu processo de amadurecimento, pela dedicação e empenho em manter a qualidade desse programa e pelo compromisso com a formação de seus alunos.

A **professora Catarina Alencar**, pela preciosa ajuda na coorientação deste trabalho, pela parceria, paciência e empenho que teve na condução do mesmo. Obrigada por compartilhar comigo os seus conhecimentos e por me ensinar tanto sobre um tema absolutamente novo para mim. Obrigada pela atenção em sanar minhas dúvidas, pela disponibilidade, esmero e solicitude de sempre. Sem a sua ajuda não teria sido possível. Muito obrigada!

Aos **professores Sérgio d'Avila e Frederico Sousa**, pela disponibilidade em contribuir para melhoria do nosso trabalho. Muito obrigada.

Ao **professor João Batista**, por me tratar com tanto carinho, pelo seu bom humor constante e generosidade em nos ajudar sempre que necessário. Obrigada por me acolher na UFCG e me fazer sentir-se em casa em seus laboratórios. A seriedade e ânimo com que trabalha são contagiantes. Obrigada!

A **professora Daniela Rios**, pelas considerações feitas durante o processo de qualificação desse trabalho e pelas dicas valiosas durante a execução do mesmo. Ao **professor Heitor Honório**, pela disponibilidade em colaborar e pela contribuição em realizar a estatística desse trabalho. Ao **professor Cassiano Nonaka**, por se prontificar em nos ajudar sempre que o procuramos. Ao **Professor André Ulisses**, pela boa vontade em nos ajudar ao nos disponibilizar o uso da politriz da UFPB. Ao **Professor Carlos José Araújo**, por dispor a cortadeira do LaMMEA para nosso uso e a **Carolina Medeiros e Arella Brito**, pela presteza em me auxiliar nos procedimentos laboratoriais que até então eu desconhecia. Muito obrigada!

Aos **alunos e funcionários do Laboratório de Metalografia e do Laboratório Multidisciplinar de Materiais e Estruturas Ativas (LaMMEA) da UFCG**, pelo carinho com que sempre me receberam, em especial a Dani e Paulo César (PC), pela amizade que

construímos, pela companhia nas horas de laboratório, pelos momentos de descontração e por ter se esforçado em entender minha pesquisa para me ajudar. Sou muito grata a você.

Aos **voluntários dessa pesquisa**: Fabianna Medeiros, Erick Tássio, Alencar Neto, Ana Priscila, Luana Balduino, Fernanda Mariz, Jarmson de Pádua, Eline Moura, Raissa Toscano, Tiago Ribeiro e Anny Kalynne pela paciência e principalmente pelo empenho de fazer este trabalho acontecer junto comigo. A vocês, meu muito obrigada!

Aos **alunos da iniciação científica**, pela dedicação e disponibilidade de sempre. Trabalhar com vocês foi gratificante e muito enriquecedor. Obrigada pela ajuda, que foi primordial para a realização desse trabalho. E ao **grupo de pesquisa** do qual me orgulho de fazer parte, pelos trabalhos científicos realizados em parceria.

Aos meus **colegas de turma de mestrado**, pelo companheirismo, positividade, pelos momentos de estudos e de estímulo. Chegar ao fim desse ciclo ao lado de cada um de vocês tornou tudo ainda mais especial. Desejo muito sucesso na vida de cada um, de coração. Em especial a **Fabianna Medeiros e Diego Romário**, pelo laço afetivo singular que criamos em tão pouco tempo de convivência, o astral e positividade de vocês são incomparáveis e meu desejo é que nossa amizade perdure por toda a vida e a **Niebla Melo**, uma amiga muito querida, que tem sempre um conselho sensato e uma palavra apropriada nos momentos difíceis, obrigada pela amizade que construímos, pelos sorrisos e pelos êxitos partilhados.

A **Lorena Mendes**, minha querida colega de pesquisa, obrigada por todos os direcionamentos e pela paz que me transmitiu nos momentos em que mais precisei. Serei sempre grata pela sua generosidade e disposição para contribuir não só para a conclusão desta etapa tão importante para mim, mas também para o meu crescimento pessoal. Sua amizade é um presente do Senhor. Obrigada!

A **todos os meus amigos**, alguns mesmo distantes, sempre se mantiveram ao meu lado, acreditaram no meu potencial e torceram por mim. Muito obrigada pelo afeto diário, de todos.

Aos **meus familiares** em geral, que são minha base, me apoiam e me estimulam sempre a ser alguém melhor. Sei que posso contar com vocês para tudo. Vocês são uma riqueza imensurável.

A empresa **Acecil Central de Esterelização Comércio e Indústria Ltda** pela gentileza em esterilizar os espécimes de esmalte utilizados nessa pesquisa.

A **CAPES** pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa de estudos.

A **Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da UEPB** por financiar essa pesquisa através do edital Propesq 2015.

E a todos aqueles que, embora não nomeados, compartilharam dos meus ideais, que veem com alegria o fim dessa etapa e que se encontram tão felizes quanto eu, o meu reconhecido e sincero muito obrigada.

Consagre ao Senhor tudo o que você faz e seus planos serão bem-sucedidos (Provérbios 16:3).

RESUMO

A erosão dentária tem ganhado destaque pelo aumento de sua prevalência, que tem ocorrido, principalmente, devido a mudança dos hábitos alimentares e no estilo de vida da sociedade moderna. Diferentes condutas terapêuticas têm sido avaliadas como potenciais alternativas para o seu controle, dentre os quais está o uso da caseína fosfopeptídeo - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP). Os estudos disponíveis na literatura com as pastas contendo CPP-ACP, associadas ou não ao fluoreto (CPP-ACPF) têm demonstrado resultados conflitantes. Diante do exposto, o presente trabalho avaliou o potencial inibidor da desmineralização erosiva das pastas de CPP-ACP mediante um protocolo *in situ* de curta duração. Para isso, doze voluntários utilizaram dispositivos intrabucais palatinos contendo quatro espécimes de esmalte bovino. Os 192 espécimes de esmalte tiveram sua dureza superficial inicial (SH_i) aferida e foram aleatorizados entre os voluntários e grupos em estudo. Os grupos experimentais foram: GI = Pasta de CPP-ACP (MI Paste™), GII = Pasta de CPP-ACPF (MI Paste Plus™), GIII = Pasta fluoretada (900 ppm de NaF) e GIV = Pasta placebo. Em cada fase do estudo, após a formação da película adquirida (duas horas de uso contínuo), os voluntários fizeram a aplicação intrabucal das pastas (três min) e utilizaram o dispositivo intrabucal por três horas adicionais. Em seguida, a lesão erosiva foi produzida pela imersão do dispositivo intrabucal por 30 segundos em 150 ml de ácido clorídrico (0,01M, pH 2,3). As quatro fases cruzadas foram intercaladas com um período de 1 dia de *washout* e a dureza superficial final (SH_f) foi medida para o cálculo do percentual de perda de dureza (%SHL). Os dados foram analisados inferencialmente por ANOVA para medidas repetidas e teste de Tukey ($\alpha = 5\%$), por meio do *software* SigmaPlot. Os resultados da perda de dureza demonstraram haver diferenças entre os grupos ($p < 0,05$). As pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF apresentaram percentual de perda de dureza significativamente menor (9,26% e 9,14%, respectivamente) do que a pasta fluoretada (15,5%) e o placebo (16,7%), porém sem diferenças entre si. Conclui-se que as pastas de CPP-ACP foram capazes de reduzir a desmineralização erosiva em relação à pasta fluoretada e placebo, mas a incorporação de fluoreto em sua formulação não promoveu benefício adicional.

Palavras-Chave: Erosão Dentária, Esmalte Dentário, Caseínas, Fluoreto de Sódio.

ABSTRACT

Dental erosion has been highlighted by the increase of its prevalence, which has mainly occurred due to a changing in eating habits and in the modern society lifestyle. Different therapeutic approaches have been evaluated as potential alternatives in their control among which is the use of casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate (CPP-ACP). The available studies in the literature with pastes containing CPP-ACP, associated or not to fluoride (CPP-ACPF) have shown conflicting results. Thus, the present work evaluated the inhibitory potential of erosive demineralization of CPP-ACP pastes by a short-term in situ protocol. For this, twelve volunteers used palatal intraoral devices containing four specimens of bovine enamel. The 192 enamel specimens had their initial superficial hardness (SHi) measured and were randomized between the volunteers and study groups. The experimental groups were: GI = Paste of CPP-ACP (MI Paste™), GII = Paste of CPP-ACPF (MI Paste Plus™), GIII = Fluorinated Paste (900 ppm NaF) and GIV = placebo paste. At each stage of the study, after the formation of the acquired film (two hours of continuous use), the volunteers did the intrabuccal application of the paste (three min) and used the intrabuccal device for three additional hours. The erosive lesion was then produced by immersing the intraoral device for 30 seconds in 150 ml of hydrochloric acid (0.01M, pH 2.3). The four cross-steps were intercalated with a 1-day washout period and the final surface hardness (SHf) was measured for the calculation of the percentage of hardness loss (%SHL). The data were analyzed by ANOVA for repeated measurements and Tukey's test ($\alpha = 5\%$) using SigmaPlot software. The results of the hardness loss showed differences between the groups ($p < 0.05$). CPP-ACP and CPP-ACPF pastes showed a significantly lower percentage of hardness loss (9.26% and 9.14%, respectively) than the fluoridated paste (15.5%) and placebo (16.7%), but without differences between them. It was concluded that CPP-ACP pastes were able to reduce erosive demineralization compared to fluoridated paste and placebo, but the incorporation of fluoride in its formulation did not promote additional benefit.

Key-words: Tooth Erosion, Dental Enamel, Caseins, Sodium Fluoride

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, SÍMBOLOS E PALAVRAS DE LÍNGUA ESTRANGEIRA

CPP-ACP	Caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo
CPP-ACPF	Caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo fluoretado
<i>in situ</i>	Do latim, em sítio, no local (no caso, a cavidade bucal)
<i>in vitro</i>	Do latim, em laboratório
<i>in vivo</i>	Do latim, em ser humano
<i>ex vivo</i>	Do latim, realizado fora do organismo
pH	Potencial hidrogeniônico
PB	Paraíba
s	Segundos
min	Minutos
h	Horas
µm	Micrometro
mm	Milímetro
mm ²	Milímetro quadrado
g	Gramas
mg	Miligrama
kg	Quilograma
F	Força
ml	Mililitros
L	Litro
%	Por cento
<i>Cross-over</i>	Cruzado
GI	Grupo I
GII	Grupo II
GIII	Grupo III
GIV	Grupo IV
M	Molar
p	Nível de significância
pHmetro	Medidor de potencial hidrogeniônico
®	Marca registrada

™	do inglês, <i>Trademark</i> , Marca registrada
°C	Grau Celsius
rpm	Rotações por minutos
SH _i	Dureza superficial inicial
SH _f	Dureza superficial final
%SHL	Percentual de perda de dureza
α	alfa
β	beta
±	Mais ou menos
dP	Desvio Padrão
ppm	Parte por milhão
F	Fluoreto
NaF	Fluoreto de Sódio
CrNi	Cromo Níquel
<i>Washout</i>	Tempo de pausa maior que a substantividade do produto
p	Nível de significância
Glu	Glutamina
Ser	Serina
USA	<i>United States of America</i>
PROPESQ	Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
LaMMEA	Laboratório Multidisciplinar de Materiais e Estruturas Ativas
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
PPGO	Programa de Pós Graduação em Odontologia
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Médias das durezas superficiais iniciais (SH_i), finais (SH_f) e porcentagem de perda de dureza (%SHL) de acordo com as fases experimentais (n=12).	47
---	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Estudos <i>in situ</i> que avaliaram o uso de CPP-ACP na forma de pasta para a prevenção/tratamento da erosão dentária.	27
Quadro 2: Constituintes principais das pastas avaliadas.	30

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Dente seccionado e fixado em disco acrílico cristal com godiva termo-ativada.....	38
Figura 2: Espécime de esmalte com dimensões de 4x4 mm ²	38
Figura 3: Espécime fixado com cera após a planificação da dentina.....	38
Figura 4: Espécime após o polimento final, com aspecto vítreo.....	38
Figura 5: Espécimes embalados após a esterilização com óxido de etileno.....	38
Figura 6: Dispositivo intrabucal com os espécimes posicionados e protegidos por fio ortodôntico CrNi 0,6mm.....	38
Figura 7: Pastas de estudo (GI, GII, GIII e GIV, respectivamente).....	39
Figura 8: Dispositivo intrabucal sendo utilizado.....	39

SUMÁRIO

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	17
2. OBJETIVOS.....	28
2.1 OBJETIVO GERAL	28
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	29
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	29
3.2 OBTENÇÃO DOS DENTES E PREPARO DOS ESPÉCIMES	30
3.3 AVALIAÇÃO DA DUREZA SUPERFICIAL INICIAL (SH _i) E SELEÇÃO DOS ESPÉCIMES	31
3.4 ESTERILIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE	32
3.5 SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS	32
3.6 PREPARO DO DISPOSITIVO INTRABUCAL PALATINO	33
3.7 ALEATORIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE ENTRE OS GRUPOS	34
3.8 CEGAMENTO	34
3.9 PROCEDIMENTOS INTRABUCAIS	34
3.10 DESMINERALIZAÇÃO EROSIVA DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE	35
3.11 AVALIAÇÃO DA DUREZA FINAL DA SUPERFÍCIE (SH _f) E CÁLCULO DO PERCENTUAL DE PERDA DE DUREZA (%SHL)	35
3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
3.13 ASPECTOS ÉTICOS	36
4. RESULTADOS.....	39
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
6. REFERÊNCIAS	55
APÊNDICES	64
APÊNDICE A - FORMULÁRIO PARA SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES	65
APÊNDICE B - INSTRUÇÕES GERAIS PARA OS PARTICIPANTES	66
APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	67
ANEXOS	69
ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA.....	70
ANEXO B - NORMAS DO PERIÓDICO CARIES RESEARCH.....	74

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A erosão dentária caracteriza-se como uma perda de estrutura dentária progressiva e dinâmica (AMAECHI; HIGHAM, 2005), sendo referida como uma patologia crônica, em que ocorre dissolução localizada de minerais da superfície do dente, devido a exposição a ácidos de origem não bacteriana (IMFELD, 1996; AMAECHI; HIGHAM, 2005; MAGALHÃES *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2014; DINIZ; LUSSI, 2017; ZAWAIDEH; OWAIS; MUSHTAHA, 2017).

Os ácidos que causam a erosão podem ser intrínsecos ou extrínsecos ao organismo do indivíduo (BUZALAF; HANNAS; KATO, 2012; SHELLIS; ADDY, 2014; SALAS *et al.*, 2015; DINIZ; LUSSI, 2017; MAFLA *et al.*, 2017) e são responsáveis por tornar a superfície dentária amolecida e susceptível ao desgaste por abrasão e atrito (WIEGAND *et al.*, 2007). Os ácidos intrínsecos afetam, na maioria das vezes, as faces palatinas e oclusais dos dentes (KANZOW *et al.*, 2016) e são levados à cavidade bucal por meio de um fluxo atípico de conteúdo advindo do estômago (JOHANSSON *et al.*, 2012; SHELLIS; ADDY, 2014), como em casos de vômitos recorrentes em doentes que sofrem de distúrbios alimentares, a exemplo dos casos de anorexia, bulimia e refluxo gastroesofágico (BUZALAF; HANNAS; KATO, 2012).

Por sua vez, os ácidos extrínsecos geralmente acometem inicialmente a face vestibular dos dentes anteriores (KANZOW *et al.*, 2016) e são introduzidos na boca por meio da alimentação (HAMBA *et al.*, 2011), a exemplo da ingestão frequente de refrigerantes (TURSSI *et al.*, 2011), sucos cítricos (SALAS *et al.*, 2015), alimentos ácidos, uso de produtos de higiene bucal ácidos (BUZALAF; HANNAS; KATO, 2012), de fatores ligados ao uso constante de medicamentos ácidos, como o ácido acetilsalicílico e vitamina C (KANZOW *et al.*, 2016) ou também devido à exposição ocupacional (MAGALHÃES *et al.*, 2009), a exemplo dos degustadores de vinho (PIEKARZ *et al.*, 2008).

Diversos fatores comportamentais, a exemplo dos hábitos alimentares excessivamente ácidos, frequência e método de ingestão deles (SALAS *et al.*, 2015), características biológicas, como a formação da película adquirida (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004), as características salivares, a estrutura dentária e anatomia bucal (POGGIO *et al.*, 2013) e fatores ligados às propriedades químicas dos alimentos e bebidas com propriedades erosivas (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; POGGIO *et al.*, 2013; KANZOW *et al.*, 2016) estão associados ao surgimento e progressão da erosão dentária (TANTBIROJN *et al.*, 2008; BATISTA *et al.*,

2016), definindo-a como uma condição multifatorial (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; SALAS *et al.*, 2015; DINIZ; LUSSI, 2017), o que pode explicar a variação na susceptibilidade individual à erosão dentária (UHLEN *et al.*, 2016).

A erosão dentária ocorre quando há queda no potencial hidrogeniônico (pH) do meio bucal, mas, diferentemente do que é estabelecido para cárie, não existe um valor fixo de pH crítico do agente erosivo para que isso aconteça, sendo dependente da solubilidade do sólido em questão e da concentração dos minerais relevantes presentes na solução erosiva (LUSSI; CARVALHO, 2014), como cálcio, fosfato e fluoreto, além das propriedades de tamponamento, adesivas e quelantes (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004).

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), decorrente em grande parte da própria escovação dentária (SHELLIS; ADDY, 2014).

O amolecimento superficial e aumento da rugosidade do esmalte caracterizam-se, portanto, como manifestações precoces do processo de erosão (TANTBIROJN *et al.*, 2008). Na fase tardia do seu desenvolvimento, quando ocorre perda de estrutura dentária (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011), o tratamento restaurador se faz necessário (PEUTZFELDT; JAEGGI, LUSSI, 2014), podendo esse ser oneroso para o paciente e desafiador para o profissional (MAFLA *et al.*, 2017).

Levando-se em consideração o poder destrutivo da erosão dentária e sua etiologia multifatorial, bem como a dificuldade da eliminação dos fatores causais, é apropriado identificá-la e intervir o mais precocemente possível (ALENCAR, 2013, LUSSI, 2014), por meio do desenvolvimento de medidas que controlem sua progressão (AMAECHI; HIGHAM, 2005) e que atuem preferencialmente na fase inicial desse agravo bucal, protegendo a dentição contra danos adicionais (PEUTZFELDT; JAEGGI, LUSSI, 2014), especialmente do desgaste dentário erosivo.

Desde a exposição aos fatores de risco da erosão dentária até o desenvolvimento de seus primeiros sinais clínicos evidentes pode demandar meses ou mesmo anos (RALLAN *et al.*, 2013). Os sinais iniciais aparecem discretamente, com um aspecto suave brilhante e nas fases mais avançadas podem ser encontradas novas mudanças na morfologia dentária, que resultam em uma superfície lisa e brilhante ou no desenvolvimento de uma concavidade no esmalte, em que a largura é maior que a profundidade (LUSSI, JAEGGI, ZERO, 2004).

O desgaste avançado consequente da erosão pode causar sintomatologia dolorosa como a hipersensibilidade, limitações estéticas e funcionais (KANZOW *et al.*, 2016; MAFLA *et al.*, 2017), afetando não só a integridade dos dentes isoladamente, como também a saúde de toda a dentição, especialmente importante quando se considera a expectativa de vida aumentada e a maior notoriedade atual sobre a função e estética dos dentes (HUYSMANS; CHEW; ELLWOOD, 2011).

O desgaste dentário erosivo tem sido relatado por várias décadas (MAFLA *et al.*, 2017), no entanto a mudança nos hábitos alimentares e no estilo de vida da sociedade moderna (CASSIANO *et al.*, 2016), com um aumento substancial no consumo de alimentos e bebidas potencialmente erosivos (LUSSI, JAEGGI, ZERO, 2004; WHITE *et al.*, 2012), tem mudado a ocorrência e a distribuição da erosão ao longo dos anos (MAFLA *et al.*, 2017) tornando-a uma condição mais comum (JAEGGI; LUSSI, 2014; DINIZ; LUSSI, 2017).

Algumas das medidas possíveis para controlar a erosão são o aconselhamento dietético (MAGALHÃES *et al.*, 2009; LUSSI; HELLWIG, 2014), a estimulação do fluxo salivar (RIOS *et al.*, 2006), o uso regular de fluoreto (WHITE *et al.*, 2012) e a alteração na composição química de bebidas para diminuir seu potencial erosivo (RAMALINGAM; MESSER; REYNOLDS, 2005; FERRAZZANO *et al.*, 2012). Além disso, agentes ativos podem ser aplicados diretamente sobre a superfície do esmalte de forma a proteger contra a erosão dentária (WANG *et al.*, 2011).

A saliva naturalmente presente na cavidade bucal tem a capacidade de proteger os dentes de um ataque erosivo por diluir, neutralizar e atenuar os ácidos ou mesmo impedi-los de ter contato direto com superfície dentária, além de disso, pode promover deposição mineral no esmalte, devido à presença de componentes inorgânicos em sua composição (BAUMANN *et al.*, 2016).

Considerando que a saliva é um dos fatores biológicos mais relevantes no controle da erosão dentária (BUZALAF; HANNAS; KATO, 2012; LUSSI; HELLWIG, 2014), a estimulação do fluxo salivar também pode se caracterizar como uma das medidas para seu

controle, uma vez que se mostrou capaz de reduzir a perda mineral e o desgaste dentário (RIOS *et al.*, 2006).

A saliva é responsável também pela formação da película adquirida, que consiste em um filme orgânico livre de bactéria (BUZALAF; HANNAS; KATO, 2012), que é formado pela adsorção de peptídeos e proteínas na superfície dentária imediatamente após a escovação (BAUMANN *et al.*, 2016).

Essa película confere proteção aos dentes, formando uma interface entre sua superfície dentária e a cavidade bucal, capaz de reduzir o atrito, a abrasão e dificultar a ação dos agentes erosivos na superfície dentária, por evitar o contato direto entre ambos (MAGALHÃES *et al.*, 2009; MANTON *et al.*, 2010; WEGEHAUPT *et al.*, 2012; VENTURA *et al.*, 2017), retardando a ação dos ácidos no esmalte dentário, uma vez que a perda de mineral da superfície dentária ocorrerá somente após a difusão dos ácidos pela película adquirida ou após sua dissolução parcial (AMAECHEI; HIGHAM, 2001).

Entretanto, apesar de a película adquirida atuar no controle da erosão dentária regulando tanto a absorção quanto a liberação de cálcio e fosfato da superfície do dente (BAUMANN *et al.*, 2016), em função da sua estrutura em forma de rede, é possível haver difusão dos agentes erosivos para a superfície do esmalte (KENSCHKE *et al.*, 2016), salientando a limitação dos mecanismos protetores naturais.

De acordo com Magalhães *et al.* (2009), a medida chave para prevenção da erosão consistiria, portanto, na não exposição aos ácidos. Porém, em virtude dos fatores relacionados ao estilo de vida próprio, tal medida torna-se impraticável no dia a dia. Assim, o aconselhamento dietético pode ser uma medida utilizada para reduzir a exposição bucal a substâncias ácidas (MAGALHÃES *et al.*, 2009), diminuindo a frequência de ingestão de gêneros alimentícios potencialmente erosivos, bem como minimizando o tempo de contato desses produtos ácidos com os dentes (LUSSI; HELLWIG, 2014), controlando, dessa forma, a ocorrência de lesões de erosão (MAGALHÃES *et al.*, 2009).

A substituição dos ácidos fortemente desmineralizadores por outros de menor potencial erosivo e a adição de íons de cálcio, fosfato e fluoreto nas bebidas erosivas também são relatadas na literatura como meios alternativos no controle da erosão (LUSSI; JAEGGI; ZERO, 2004; KANZOW *et al.*, 2016). Entretanto, é preciso atentar para sua ineficiência nos casos nos quais predominam ácidos intrínsecos e reconhecer a falta de viabilidade dessa medida. Além disso, a capacidade erosiva das substâncias ácidas não depende apenas de seus fatores químicos, mas também do tipo, frequência, quantidade e temperatura de ingestão, bem como da aderência desses produtos à superfície do dente (KANZOW *et al.*, 2016).

Um meio reconhecido por melhorar a deposição mineral e dificultar a desmineralização é o uso de fluoretos (BUZALAF; HANNAS; KATO, 2012; ZAWAIDEH; OWAIS; MUSHTAHA, 2017), que agem principalmente através da deposição de uma camada de fluoreto de cálcio na superfície dentária, protegendo-a dos agentes erosivos (JONES *et al.*, 2013; JOÃO-SOUZA *et al.*, 2015), ao invés de remineralizar o esmalte amolecido (MAGALHÃES *et al.*, 2011).

Apesar de seu uso ter sido amplamente utilizado no controle da erosão (BUZALAF; MAGALHÃES; WIEGAND, 2014; SOMANI *et al.*, 2014), a literatura odontológica tem mostrado limitação da adequabilidade do uso do fluoreto isoladamente na prevenção de lesões erosivas (JONES *et al.*, 2013; LUSSI; CARNALHO, 2015; KENSCHÉ *et al.*, 2016), devido principalmente a facilidade de dissolução da camada precipitada (JONES *et al.*, 2013), sendo instável e pouco resistente ao ataque ácido (ALGARNI *et al.*, 2015).

Há um crescente número de evidências científicas que sugerem que nem todos os fluoretos são equivalentes em relação à sua capacidade de proteger as superfícies dos dentes contra os danos causados pelos agentes erosivos (LUSSI, 2014; BELLAMY *et al.*, 2014). Aqueles que contém íons metálicos em sua composição, como o estanho, precipitam uma camada com resistência superior e maior estabilidade na superfície do dente e, apesar de seu efeito limitado, são capazes de incorporar-se à camada de esmalte, oferecendo uma proteção mais eficaz quando comparados ao uso do fluoreto isolado (WHITE *et al.*, 2012), conforme reportado por alguns estudos (BELLAMY *et al.*, 2014; HOOPER *et al.*, 2014; FALLER; EVERSOLE, 2014). Entretanto, o uso de dentifrício e enxaguatórios contendo íons metálicos não é adequado para utilização rotineira, devido ao seu baixo pH e a sua possibilidade de causar comprometimento estético, com o manchamento da estrutura dentária (JONES *et al.*, 2013), além da possibilidade de provocar uma sensação adstringente na boca (MAGALHÃES *et al.*, 2011).

Entende-se, pois, que o principal objetivo dos estudos envolvendo erosão é a busca de um mecanismo eficaz no aumento da deposição mineral no esmalte superficial amolecido e, principalmente na redução da desmineralização, promovendo uma camada resistente contra o efeito dos ácidos responsáveis pela erosão (ALENCAR *et al.*, 2014). Nesse contexto, o uso de técnicas que minimizem a perda mineral do esmalte dentário (VANICHVATANA; AUYPCHAI, 2013) através do fortalecimento da superfície dentária contra a desmineralização (DINIZ; LUSSI, 2017), tem sido cada vez mais estudado dentre as quais o emprego de proteínas, a exemplo da caseína (CASSIANO *et al.*, 2016), cuja ação como agente anti-erosivo tem ganhado destaque (WHITE; GRACIA; BARBOUR, 2010).

A caseína fosfopeptídica - fosfato de cálcio amorfo, ou CPP-ACP é derivada de uma proteína 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). Os fosfopeptídeos de caseína (CPP) contêm a sequência de peptídeos - Ser (P) - Ser (P) - Ser (P) - Glu - Glu - que possuem capacidade para estabilizar fosfato de cálcio amorfo (ACP) em solução metaestável sobressaturada (REYNOLDS, 2009; IJIMA *et al.*, 2004; ZHENG *et al.*, 2013; POGGIO *et al.*, 2013).

Assim sendo, 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; RALLAN *et al.*, 2013; ALENCAR *et al.*, 2014; SOMANI *et al.*, 2014).

A ação do composto CPP-ACP sobre lesões de cárie vem sendo exaustivamente estudada nos últimos anos e os seus efeitos anticariogênicos (REYNOLDS, 2009) têm sido demonstrados tanto em estudos *in vitro* (KUMAR; ITTHAGARUN; KING, 2008; ZHOU *et al.*, 2014), como em protocolos *in situ* (IJIMA *et al.*, 2004; YENGOPAL; MICKENAUTSCH, 2009; VANICHVATANA; AUYPCHAI, 2013) e *in vivo* (GÜÇLÜ; ALAÇAM; COLEMAN, 2016; EBRAHIMI *et al.*, 2017).

Contudo, as lesões subsuperficiais iniciais de cárie preservam uma camada superficial rica em minerais, que é beneficiada pela ação do CPP-ACP, enquanto nas lesões de erosão a perda de íons cálcio e fosfato é superficial (WANG *et al.*, 2011). Logo, o efeito do CPP-ACP sobre a cárie dentária não pode ser igualmente interpretado para erosão, devido as diferenças histopatológicas entre as lesões (PRESTES *et al.*, 2013; ALENCAR *et al.*, 2014). Muito embora o CPP-ACP tem sido amplamente estudado como forma alternativa de controle da erosão, podendo ser adicionado às composições das bebidas (RAMALINGAM; MESSER; REYNOLDS, 2005; MANTON *et al.*, 2010; FERRAZZANO *et al.*, 2012), disponibilizado por meio de solução (ZHENG *et al.*, 2013), na forma de goma de mascar (PRESTES *et al.*, 2013; ALENCAR *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2017) ou pasta (CECI *et al.*, 2015; FITA; KACZMAREK, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2016; ZAWAIDEH; OWAIS; MUSHTAHA, 2017).

Os resultados encontrados com relação ao benefício do CPP-ACP no controle da

erosão dentária são controversos, sendo para alguns autores uma estratégia promissora (RAMALINGAM; MESSER; REYNOLDS, 2005; PIEKARZ *et al.*, 2008; TANTBIROJN *et al.*, 2008; MANTON *et al.*, 2010; SRINIVASAN; KAVITHA; LOGANATHAN, 2010; HAMBHA *et al.*, 2011; FERRAZZANO *et al.*, 2012; ZHENG *et al.*, 2013; PRESTES *et al.*, 2013; RALLAN *et al.*, 2013; SOMANI *et al.*, 2014; ; WANG *et al.*, 2014; ALENCAR *et al.*, 2014; CECI *et al.*, 2015; FITA; KACZMAREK, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2017; ZAWAIDEH; OWAIS; MUSHTAHA, 2017), enquanto outros pesquisadores encontraram resultados desencorajadores (TURSSI *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2011; WEGEHAUPT *et al.*, 2012; AMARAL *et al.*, 2014; WIEGAND; ATTIN, 2014; JORDÃO *et al.*, 2016; KENSCHKE *et al.*, 2016).

No que diz respeito aos seu mecanismo de ação para controle da erosão dentária, o CPP-ACP pode atuar tanto na precipitação mineral (TANTBIROJN *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2017) em superfície já desmineralizada, como na redução da desmineralização da estrutura dentária (HAMBHA *et al.*, 2011; SRINIVASAN; KAVITHA; LOGANATHAN, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Para tal, sugere-se que os compostos de CPP-ACP possuem afinidade pelas proteínas da película adquirida, unindo-se a ela e, portanto, fortalecendo a capacidade protetora (POGGIO *et al.*, 2013). Assim sendo, a ação protetora do CPP-ACP ocorre pela modificação proteica da película adquirida, que além de funcionar como barreira física reduzindo a permeabilidade da película e aumentando sua tenacidade (KENSCHKE *et al.*, 2016), atua também como um tampão, dificultando a chegada de íons ácidos à superfície do dente, inibindo a liberação de íons de cálcio e fosfato dissolvidos do esmalte durante um ataque erosivo (WHITE; GRACIA; BARBOUR, 2010), além de oferecer as suas moléculas de cálcio e fosfato para serem dissolvidas previamente à dissolução das moléculas do esmalte dentário (KENSCHKE *et al.*, 2016).

Alguns estudos têm apontado para o efeito benéfico do CPP-ACP adicionado à composição de bebidas para o controle da erosão, mostrando que o composto tem sido capaz de aumentar o pH e diminuir a acidez titulável das soluções, reduzindo seu potencial erosivo (RAMALINGAM; MESSER; REYNOLDS, 2005; MANTON *et al.*, 2010). No entanto, apesar de haver redução da capacidade erosiva das bebidas com a adição de CPP-ACP, segundo Ramalingam, Messer e Reynolds (2005), esse recurso preventivo é oneroso e torna-se impraticável devido à dificuldade de alterar quimicamente a composição de todas as bebidas com potencial erosivo.

Um outro meio de biodisponibilização do CPP-ACP é através da goma de mascar.

Demonstrou-se que o uso da goma de mascar sem açúcar contendo CPP-ACP é capaz de melhorar significativamente a precipitação mineral e promover o reendurecimento do esmalte previamente erodido (PRESTES *et al.*, 2013; ALENCAR *et al.*, 2014). Entretanto, os resultados mostraram-se insatisfatórios na prevenção do desgaste erosivo após um desafio erosivo prolongado de sete dias (ALENCAR, 2013). Além disso, quando foi utilizada previamente à desmineralização erosiva, também não se constatou efeito preventivo da goma de mascar com CPP-ACP (JORDÃO *et al.*, 2016).

Quando se leva em consideração que a goma de mascar estimula o fluxo salivar (PRESTES *et al.*, 2013), sua concentração de 18,8 mg de CPP-ACP (PRESTES *et al.*, 2013), que é inferior à das pastas (4.000 mg de CPP-ACP, presente em um tubo de 40 g), se torna ainda mais diluída. Além disso, o efeito de lavagem decorrente desse aumento do fluxo salivar, pode ser um fator intensificador da dispersão do CPP-ACP (ALENCAR, 2015).

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; AUYPCHAI, 2013).

As pastas contendo o complexo CPP-ACP têm se mostrado potencialmente capazes de atuar na prevenção e/ou na redução da erosão *in vitro* (PIEKARZ *et al.*, 2008; TANTBIROJN *et al.*, 2008; HAMBAL *et al.*, 2011; POGGIO *et al.*, 2013; RALLAN *et al.*, 2013; CARVALHO *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2014; CECI *et al.*, 2015; FITA; KACZMAREK, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2016), entretanto em alguns estudos esse efeito não foi observado (TURSSI *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2011; MOEZIZADEH; ALIM, 2014; AMARAL *et al.*, 2014) e esses resultados conflitantes se devem, principalmente, aos diferentes protocolos utilizados.

Alguns estudos verificaram, ainda, que a adição de fluoreto ao CPP-ACP, formando o CPP-ACPF, pode potencializar o efeito protetor promovido pelo CPP-ACP no controle da erosão dentária (WANG *et al.*, 2011; HAMBAL *et al.*, 2011; RALLAN *et al.*, 2013; SOMANI *et al.*, 2014). Todavia, o benefício da associação do fluoreto aos compostos de CPP-ACP, com o melhor do conhecimento atual, ainda gera discussões (WANG *et al.*, 2014), pois a literatura não é consensual com relação à sua superioridade no que diz respeito à erosão dentária.

Outra divergência apresentada pelos estudos corresponde ao momento de aplicação da

terapia proposta, ou seja, antes ou após o desafio erosivo (ALENCAR, 2015). De acordo com Lussi (2014), espera-se que seja alcançado um maior impacto positivo quando sua aplicação é feita previamente à exposição ácida, uma vez que o objetivo principal dos tratamentos preventivos deve ser a proteção da superfície contra a desmineralização ao invés de sua remineralização (HUYSMANS; YOUNG; GANSS, 2014).

Além disso, considerando que o amolecimento da superfície (erosão) é um fator determinante para o desgaste dentário, espera-se também que as abordagens adotadas nessa etapa inicial sejam mais bem-sucedidas que o tratamento do quadro em estágio mais avançado (LUSSI, 2014), além de serem obtidas as primeiras ideias relativas às medidas de prevenção para esse agravo (MENDONÇA *et al.*, 2017).

Vários estudos avaliaram o potencial preventivo das pastas de CPP-ACP aplicadas no esmalte previamente ao desafio erosivo, associadas ou não ao fluoreto, comparadas a diversos outros agentes protetores, utilizando protocolos de estudo distintos e enquanto Hamba *et al.* (2011), Wang *et al.* (2014), Ceci *et al.* (2015) e Zawaideh, Owais e Mushtaha (2017) obtiveram resultados positivos, Rees, Loyn e Chadwick (2007), Wang *et al.* (2011), Carvalho *et al.* (2013), Amaral *et al.* (2014), Moezizadeh e Alimi (2014), Kensche *et al.* (2016), Oliveira *et al.* (2016) e Poggio *et al.* (2017) encontraram resultados pouco favoráveis.

É importante destacar que a maioria dos estudos que avaliaram a efetividade das pastas de CPP-ACP no controle da erosão dentária foram conduzidos em abordagens estritamente laboratoriais. Apesar de os experimentos *in vitro* ainda prevalecem nas investigações sobre erosão dentária, provavelmente por serem financeiramente mais viáveis e permitirem uma avaliação rápida de produtos/tratamentos (BATISTA *et al.*, 2016), estes não são capazes de reproduzir as características biológicas inerentes ao ambiente bucal.

Assim, destaca-se que a natureza laboratorial dos estudos não leva em consideração os vários fatores presentes no ambiente bucal que exercem influência na dinâmica erosiva (POGGIO *et al.*, 2013), a exemplo das proteínas presentes na saliva humana que podem estabilizar as partículas do complexo CPP-ACP e precipitá-las nas superfícies dos dentes em ensaios *in situ*. Nos estudos *in vitro* essas partículas podem ser degradadas, resultando em uma menor proteção contra a erosão (BATISTA *et al.*, 2016).

Grande parte das abordagens laboratoriais utiliza formulações de saliva artificial, nas quais as proteínas salivares geralmente não estão contidas, impedindo a formação de uma película adquirida adequada, tendo, portanto, impacto sobre o processo erosivo (BUZALAF; HANNAS; KATO, 2012).

Segundo Huysmans, Chew e Ellwood (2011), para legitimar os resultados de estudos

in vitro são necessários ensaios clínicos *in vivo*, usando dentição natural e populações de estudo apropriadas. Entretanto, os autores evidenciam que a utilização de instrumentos capazes de quantificar mudanças sutis na superfície dentária, tal como a desmineralização precoce e o amolecimento, é extremamente desafiadora nos estudos dessa natureza, uma vez que a perda de superfície de tecido dentário geralmente progride lentamente e para monitorá-la se faz necessária a identificação de uma referência estável e reproduzível na superfície do dente, a partir da qual a erosão possa ser medida.

Assim sendo, estudos *in situ*, aqueles em que os voluntários utilizam dispositivos contendo fragmentos de dentes que são inseridos na cavidade bucal, são utilizados para contornar as dificuldades de realização de estudos de erosão dentária *in vivo* (ALENCAR *et al.*, 2016), funcionam como uma excelente conexão entre a situação clínica natural e a de laboratório.

Os estudos *in situ* fornecem informações clinicamente mais pertinentes que os estudos *in vitro* (SRINIVASAN; KAVITHA; LOGANATHAN, 2010), sendo adequados para avaliar o potencial preventivo de produtos no controle da erosão dentária (ZAWAIDEH; OWAIS; MUSHTAHA, 2017). E oferecem ainda a vantagem da padronização dos desafios erosivos, como concentração, volume e duração da exposição ao agente erosivo iguais para todos os grupos de estudo, minimizando a variabilidade (BELLAMY *et al.*, 2014), somada a exposição dos espécimes ao ambiente bucal.

Os estudos que avaliaram a eficácia do CPP-ACP no controle da erosão por meio de um protocolo *in situ* estão resumidos a seguir (Quadro 1).

Quadro 1: Estudos *in situ* que avaliaram o uso de CPP-ACP na forma de pasta para a prevenção/tratamento da erosão dentária.

Autor / Ano	Desenho do estudo	Grupos Estudados	Momento de Aplicação	Resultados	Efeito adicional do fluoreto
Srinivasan, Kavitha e Loganathan (2010)	<i>In situ</i>	Pasta cpp-acp, cpp-acf e controle.	Pós erosão	Demostrou haver reendurecimento significativo com o uso do CPP-ACP e CPP-ACPF.	sim
Wegehaupt <i>et al</i> (2012)	<i>In situ</i>	Pasta de cpp-acp, solução estanhosa e controle.	Pós erosão	Não houve benefício de nenhum dos tratamentos em relação às amostras não tratadas, quanto ao reendurecimento do esmalte.	-
Wiegand e Attin (2014)	<i>In situ</i> - ciclagem	Pasta de cpp-acp, cpp-acpf, solução estanhosa, leite, leite + fluoreto, dentifício fluoretado e controle.	Pós erosão	As pastas de CPP-ACP foram ineficazes no reendurecimento e redução do desgaste dentário erosivo.	não
Zawaideh, Owais	<i>In situ</i> - ciclagem	Pasta de cpp-acp, fluoretada e controle.	Antes da	O CPP-ACP apresentou melhor desempenho	-

e Mushtaha (2017)			erosão	preventivo que o fluoreto.	
----------------------	--	--	--------	----------------------------	--

Na maior parte dos estudos *in situ* acima citados a aplicação da pasta de CPP-ACP foi feita depois do desafio erosivo. Até o presente momento, apenas Zawaideh, Owais e Mushtaha (2017) estudaram *in situ* a eficácia da pasta de CPP-ACP (Tooth Mousse) quanto as alterações de dureza da superfície, quando aplicada previamente à erosão do esmalte, que foi comparada a um dentifício fluoretado (ProNamel) e a ausência de tratamento. Os tratamentos foram aplicados 2 vezes ao dia, durante 10 dias (cada fase) por 3 min, sendo os dispositivos intrabucais retirados apenas para alimentação. A dureza dos espécimes foi aferida após o período de tratamento e após a erosão (ácido cítrico a 0,3%, pH 3,8, 25 min) foi medida novamente. Os resultados mostraram que a pasta de CPP-ACP apresentou o melhor desempenho preventivo, seguida pelo dentifício fluoretado e a ausência de tratamento. Entretanto, é preciso atentar que a pasta de CPP-ACP foi comparada à uma pasta que contém nitrato de potássio.

Assim sendo, a ação das pastas de CPP-ACP nas lesões iniciais de erosão, comparadas ao fluoreto utilizado convencionalmente e a ausência de tratamento permanece incipiente, devido, principalmente, a carência de estudos dessa condição sob protocolos *in situ* de curta duração, e que mais se assemelhem às condições clínicas. Diante disso e da falta de consenso dos estudos já realizados, ressalta-se a necessidade de pesquisas adicionais que esclareçam a efetividade das pastas de CPP-ACP na prevenção da erosão dentária e se as formulações suplementadas com fluoreto de sódio realmente apresentam uma maior proteção contra erosão.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o potencial inibidor da desmineralização erosiva do esmalte promovido por de pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito preventivo sobre a desmineralização erosiva de pastas contendo CPP-ACP quando comparado a pasta fluoretada.
- Mensurar a proteção adicional oferecida pela pasta de CPP-ACP com o fluoreto incorporado contra a desmineralização erosiva.
- Investigar se o fluoreto de sódio é capaz de propiciar proteção contra erosão, quando comparado à ausência de tratamento.

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Este estudo *in situ*, do tipo cruzado, duplo-cego e randomizado foi desenvolvido com uma amostra formada por doze voluntários para testar o potencial inibidor da desmineralização erosiva do esmalte (inibição do amolecimento do esmalte) promovido por pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF sobre o esmalte hígido submetido à posterior erosão. Para tal, os voluntários utilizaram dispositivos intrabucais palatinos contendo quatro espécimes de esmalte bovino hígidos (selecionados pela dureza superficial inicial - *SHI*) e as aplicações das pastas foram feitas com o dispositivo inserido na cavidade bucal, conforme os grupos descritos abaixo:

GI - Esmalte tratado com pasta de CPP-ACP a 10% (MI Paste™, GC America Inc., USA, sabor menta).

GII - Esmalte tratado com pasta de CPP-ACP a 10% + 900 ppm de Fluoreto de sódio (MI Paste Plus™, GC America Inc., USA, sabor menta).

GIII - Esmalte tratado com 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, PB, Brasil).

GIV - Esmalte tratado com Pasta placebo sem CPP-ACP, sem Fluoreto de sódio (Fórmula magistral a base de água, sabor menta - Dilecta® Farmácia de Manipulação & Homeopatia, João Pessoa, PB, Brasil).

O quadro 2 relaciona os ingredientes listados pelo fabricante das pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF.

Quadro 2: Constituintes principais das pastas avaliadas.

Pasta Teste	GC Mi Paste	GC MI Paste Plus
Ingredientes	Caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo, água, glicerol, d-sorbitol, propilenoglicol, dióxido de silício, dióxido de titânio, xilitol, ácido fosfórico, aromatizante, Carboximetilcelulose de sódio, óxido de zinco, sacarina de sódio, p-hidroxibenzoato de etilo, óxido de magnésio, goma de guar, p-hidroxibenzoato de propilo e p-hidroxibenzoato de butilo.	Caseína fosfopeptídea fosfato de cálcio amorfo, fluoreto de sódio, água, glicerol, d-sorbitol, Carboximetilcelulose de sódio, propilenoglicol, dióxido de silício, dióxido de titânio, xilitol, ácido fosfórico, aromatizante, sacarina de sódio, p-hidroxibenzoato de etilo, propil p-hidroxibenzoato de butilo e p-hidroxibenzoato de butilo.
Fabricante	GC America Inc, USA	GC America Inc, USA

3.2 OBTENÇÃO DOS DENTES E PREPARO DOS ESPÉCIMES

Os dentes incisivos bovinos (N = 450), obtidos em abatedouros de bovinos, passaram por uma seleção visual prévia e aqueles que não apresentaram alterações evidentes no esmalte (trincas, rachaduras, grande desgaste incisal, manchas e/ou defeitos hipoplásicos) foram elegidos (N = 365) (ALENCAR, 2013; ALENCAR, 2015; MENDONÇA, 2015).

Os dentes foram limpos com curetas periodontais (Duflex 55G/SS, White Artigos Dentários Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil), para remoção de resíduo de tecido gengival e mantidos em solução de timol a 0,1%, pH 7,0 (Dilecta[®] Farmácia de Manipulação & Homeopatia, João Pessoa, PB, Brasil) a 4°C até o processo de corte e obtenção dos espécimes (ALENCAR *et al.*, 2014; ALMEIDA, 2016).

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, as coroas foram fixadas com godiva termoativada (Kerr Corp., Orange, CA, USA) no centro de um disco de acrílico cristal (30 mm de diâmetro por 6 mm de espessura) (Figura 1). O disco de acrílico foi acoplado em um aparelho de corte de precisão (ISOMET Low Speed Saw, Buehler Corp., Binghamton, NY, USA) e 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 mésio-distal da porção mais plana da coroa foram obtidos os fragmentos dentários com área de 4 x 4 mm² (Figura 2) (ALENCAR, 2013; ALENCAR, 2015; ALMEIDA, 2016).

Com o intuito de realizar a planificação da dentina, os fragmentos foram posicionados no centro de um disco de acrílico, com a 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). 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 (Figura 3) (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 (Figura 4) (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,).

3.3 AVALIAÇÃO DA DUREZA SUPERFICIAL INICIAL (SH_i) E SELEÇÃO DOS ESPÉCIMES

A dureza superficial inicial do esmalte foi aferida por um único pesquisador através de um microdurômetro (Michohardness 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).

Estabeleceu-se como valor padrão um percentual de 10% acima e abaixo obtido da média geral de dureza dos espécimes, sendo desprezados aqueles que não se enquadraram nesse parâmetro (ALENCAR, 2013; ALENCAR, 2015; MENDONÇA, 2015; ALMEIDA, 2016). Dessa forma, foram selecionados 192 espécimes de esmalte com dureza média de 344 KgF/mm² (324,04 KgF/mm² - 379,98 KgF/mm²).

3.4 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, embalados em envelope de papel grau cirúrgico (Medstéril, Investmar de Intercâmbio Comercial Ltda., São Paulo, SP, Brasil) e enviados 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) (Figura 5).

3.5 SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

A quantidade de voluntários desse estudo foi determinada com base em estudos *in situ* metodologicamente semelhantes (PRESTES *et al.*, 2013; ALENCAR *et al.*, 2014). Assim sendo, foram selecionados doze voluntários (8 mulheres e 4 homens), adultos jovens, com idade entre 22 e 33 anos para participar dessa pesquisa. Os voluntários foram submetidos a um exame clínico, realizado por um único pesquisador, com espátula de madeira em equipo odontológico, para detecção de cárie ativa e/ou desgaste dentário (ALENCAR, 2013). A fim de incluir no estudo indivíduos com padrões salivares normais, foram realizados testes salivares de pH e fluxo estimulado e não estimulado. Todas as coletas de saliva foram feitas no período vespertino, pelo mesmo pesquisador, tendo sido previamente orientado aos participantes para ficarem em jejum nas duas horas que antecederam a coleta (ALENCAR, 2015; ALMEIDA, 2016) (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, permanecendo 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, AUY220, 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). O pH da saliva coletada também foi aferido por meio de um pHmetro (W3B, pH Meter, Bel Engineering, Itália) utilizando uma amostra de três ml de saliva (ALENCAR, 2015; MENDONÇA, 2015; ALMEIDA, 2016).

- Avaliação do fluxo salivar estimulado

Os voluntários mascararam por cinco minutos uma película transparente flexível de parafina (Parafilm M, Laboratory Film, Bemis Company, Inc., USA), para estimular a produção de saliva. A saliva produzida durante os primeiros 30 segundos foi deglutida, sendo subsequentemente dispensada (MENDONÇA, 2015) em um béquer de 100 ml (Uniglas Becker, São Paulo, Brasil) previamente pesado em balança eletrônica de precisão (Shimadzu Corporation, AUY220, UniBloc, Japão). Os participantes 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) sendo considerado normal um fluxo maior que 1 ml/min (ALENCAR, 2015; MENDONÇA, 2015; ALMEIDA, 2016) e o pH medido de maneira similar ao do fluxo não estimulado.

3.5.1 Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão considerados na anamnese para composição da amostra foram: fumar; apresentar lesões de cárie ativa ou erosão dentária; apresentar desgaste dentário acentuado; ter recebido aplicação tópica de flúor pelo menos duas semanas antes do estudo; utilizar medicamentos que alteram o fluxo salivar (antidepressivos, narcóticos, diuréticos ou anti-histamínicos), ter sofrido radioterapia e/ou quimioterapia, praticar atividades aquáticas em piscina clorada, apresentar doenças sistêmicas tais como as autoimunes, xerostomia, diabetes tipo 1, má nutrição, problemas gastroesofágicos e distúrbios de regurgitação e vômito; apresentar fluxo salivar estimulado menor que 1 ml/min e não estimulado menor que 0,1 ml/min (ALENCAR, 2013; MENDONÇA, 2015).

3.6 PREPARO DO DISPOSITIVO INTRABUCAL PALATINO

Inicialmente foi obtido um molde de alginato (DencriGel, Dencril, São Paulo, Brasil) do arco superior dos participantes do estudo, o qual foi vazado em gesso pedra tipo III (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 Ltda., São Paulo, SP, Brasil) pela técnica do pincel, pó e líquido.

Para cada voluntário foram fabricados quatro dispositivos intrabucais palatinos removíveis, um para cada grupo. Em cada dispositivo foram confeccionadas duas cavidades de 12 x 6 x 3 mm (comprimento x largura x profundidade), uma do lado direito e uma do esquerdo, para fixação de dois espécimes 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 (Figura 6), 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.

3.7 ALEATORIZAÇÃO DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE ENTRE OS GRUPOS

Com intuito de homogeneizar a dureza dos espécimes entre os grupos e voluntários, realizou-se a seleção planejada dos 192 espécimes conforme os valores de dureza iniciais, em seguida foi feita uma distribuição aleatória estratificada entre os grupos e os participantes, de forma que em todos os grupos em estudo fossem alocados espécimes com dureza mais baixa e mais alta. Para tal, os espécimes foram ordenados no sentido crescente de dureza e utilizando a função “aleatória” da categoria matemática do programa *Microsoft Excel* (Microsoft Corporation, Washington, USA), foram realizados os sorteios (ALENCAR, 2015; MENDONÇA, 2015; ALMEIDA, 2016). A localização no lado direito ou esquerdo do dispositivo também foi determinada aleatoriamente para cada voluntário e cada fase (JORDÃO *et al.*, 2016).

3.8 CEGAMENTO

Para realização do cegamento, as pastas em estudo foram acondicionadas em recipientes plásticos codificados com quatro cores distintas, por um pesquisador alheio à coleta e tabulação dos dados. Dessa forma, os participantes da pesquisa também não tomaram conhecimento da pasta correspondente a cada fase.

3.9 PROCEDIMENTOS INTRABUCAIS

Os voluntários receberam um kit contendo uma bisnaga de dentífrico fluoretado (Colgate Total 12[®] Clean Mint, 90g, 1.450 ppm F, Colgate-Palmolive Industrial Ltda., São Paulo, Brasil), uma escova de dente (Oral B, Classic, Acumen Houseware Industry Co. Ltd, China) e um tubo de fio dental (Sanifill, 100m, Cosmed Indústria de Cosméticos e Medicamentos S/A, Barueri, SP, 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, com gaze, água, juntamente com a pasta correspondente à fase em estudo (Figura 7) 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 voluntários foram treinados em todas as fases do estudo.

As quatro fases desse estudo foram intercaladas com o período de um dia de *washout*. Em cada fase, após o café da manhã e realização dos procedimentos de higiene bucal, o voluntário foi orientado a esperar uma hora, em função da presença do fluoreto no dentifrício (ALENCAR *et al.*, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2017), e então iniciar o uso do dispositivo intrabucal (Figura 8).

Transcorridas duas horas de uso, para formação da película adquirida (MENDONÇA *et al.*, 2017), o participante fez a aplicação tópica intrabucal da pasta fornecida em volume aproximado de 0,5 ml nos espécimes, por meio digital, conforme as recomendações do fabricante. Após três minutos da aplicação, os participantes foram orientados a expelir o remanescente de pasta e não enxaguar a boca, sendo o dispositivo utilizado por mais três horas (tempo de substantividade das pastas) (POGGIO *et al.*, 2013; REEMA; LAHIRI; ROY, 2014), nesse período de tempo os voluntários foram orientados a não comer e beber.

Após esse tempo, os dispositivos foram removidos e 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 para proceder a desmineralização erosiva dos espécimes.

3.10 DESMINERALIZAÇÃO EROSIVA DOS ESPÉCIMES DE ESMALTE

Para realização do desafio erosivo utilizou-se uma solução de ácido clorídrico (Vetec Química Fina Ltda., Rio de Janeiro, Brasil) 0,01M, com o pH 2,3, para imersão dos dispositivos intrabucais em 150 ml da solução durante 30 segundos, sob agitação constante (VH Softline, Midas Dental Products Ltda., Araraquara, SP, Brasil), sendo os espécimes lavados com água deionizada a fim de cessar o processo de desmineralização (TEREZA *et al.*, 2016; MENDONÇA *et al.*, 2017).

3.11 AVALIAÇÃO DA DUREZA FINAL DA SUPERFÍCIE (SH_f) E CÁLCULO DO PERCENTUAL DE PERDA DE DUREZA (%SHL)

Para a avaliação da dureza superficial final utilizou-se o mesmo microdurômetro com as mesmo protocolo adotado na avaliação da dureza superficial inicial. Foram feitas cinco 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 dos valores de durezas iniciais finais após a desmineralização erosiva, foi utilizada para calcular o percentual de perda de dureza de acordo com a fórmula: $[(SH_i - SH_f) / (SH_i)] \times 100$ (JORDÃO *et al.*, 2016).

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente foi verificada a normalidade e homogeneidade dos dados referentes ao percentual de perda de dureza por meio do teste Shapiro-Wilk. Uma vez que estes pressupostos foram satisfeitos, os dados foram tratados pelo teste ANOVA de amostra repetidas, para comparar os efeitos dos tratamentos. Em seguida o teste de Tukey foi realizado para comparações múltiplas. O nível de significância (p) adotado em todos os testes foi de 5% e o *software* utilizado foi o SigmaPlot para Windows versão 12.3 (Software Systat 2011, Alemanha).

3.13 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 parecer 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, bem como atendeu os preceitos estabelecidos pela Declaração de Helsinki. Todos os participantes que aceitaram participar deste estudo assinaram o TCLE (Apêndice C).



Figura 1: Dente seccionado e fixado em disco acrílico cristal com godiva termo-ativada.



Figura 2: Espécime de esmalte com dimensões de 4x4 mm².

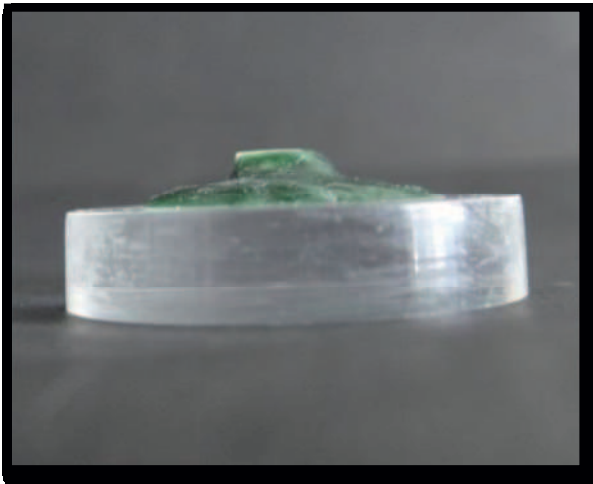


Figura 3: Espécime fixado com cera após a planificação da dentina.

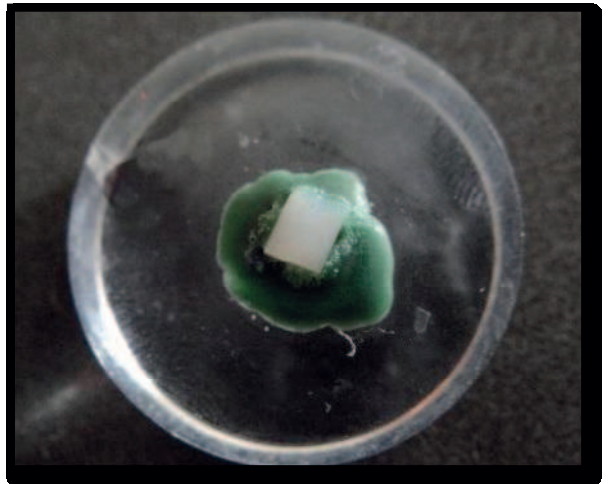


Figura 4: Espécime após o polimento final, com aspecto vítreo.



Figura 5: Espécimes embalados após a esterilização com óxido de etileno.



Figura 6: Dispositivo intrabucal com os espécimes posicionados e protegidos por fio ortodôntico CrNi 0,6mm.



Figura 7: Pastas de estudo (GI, GII, GIII e GIV, respectivamente).



Figura 8: Dispositivo intrabucal sendo utilizado.

4. RESULTADOS

Os resultados desse estudo foram apresentados em forma de artigo científico, que será submetido ao periódico Caries Research.

Periódico: Caries Research

ISSN: 1421-976X

Qualis em Odontologia: A1 / Fator de Impacto: 1.811

Artigo formatado de acordo com as normas de publicação do periódico (ANEXO B).

Efeito In Situ da Aplicação de Pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF Previamente a um Desafio Erosivo de Curta Duração

Liege Helena Freitas Fernandes¹, Catarina Ribeiro Barros Alencar¹, João Baptista da Costa Agra de Melo², Daniela Rios³, Heitor Marques Honório³, Alessandro Leite Cavalcanti¹.

¹ Departamento de Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba.

² Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Campina Grande.

³ Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

Título curto: Efeito das pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF na erosão do esmalte.

Palavras chaves: Erosão Dentária, Esmalte Dentário, Caseínas, Fluoreto de Sódio.

Autor para correspondência:

Liege Helena Freitas Fernandes

Departamento de Odontologia, Curso de Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba,
Avenida das Baraúnas, S/N, Bodocongó, 58429-500 Campina Grande, PB, Brasil.

Email: liege_helena@hotmail.com

Resumo

Objetivo: avaliar o efeito *in situ* da aplicação intrabucal das pastas contendo caseína fosfopéptido - fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) na prevenção da erosão inicial. Métodos: 192 espécimes de esmalte bovinos, após seleção pela dureza superficial inicial (SH_i), foram aleatorizados entre os voluntários e grupos em estudo: GI. Pasta de CPP-ACP (MI Paste™), GII. Pasta de CPP-ACPF (MI Paste Plus™), GIII. Pasta fluoretada (900 ppm de NaF) e GIV. Pasta placebo. Em cada uma das quatro fases cruzadas intercaladas por 1 dia de washout, os doze voluntários utilizaram dispositivos intrabucais contendo 4 espécimes por 2 horas para formação da película adquirida, aplicaram os tratamentos intrabucais (3min) e permaneceram com o dispositivo na boca por 3 horas. A desmineralização erosiva foi realizada *ex vivo* com ácido clorídrico (0,01M, pH 2,3, 30s). Em seguida, a dureza superficial final (SH_f) foi avaliada para o cálculo do percentual de perda de dureza ($\%SHL = (SH_i - SH_f) / SH_i \times 100$). Os dados foram analisados por ANOVA para medidas repetidas e teste de Tukey ($\alpha = 5\%$). Resultados: Os resultados da perda de dureza demonstraram haver diferenças entre os grupos ($p < 0,05$). As pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF apresentaram percentual de perda de dureza significativamente menor (9,26% e 9,14%, respectivamente) do que a pasta fluoretada (15,5%) e o placebo (16,7%), porém sem diferenças entre si. Conclusão: As pastas de CPP-ACP foram capazes de reduzir a desmineralização erosiva em relação à pasta fluoretada e placebo, mas a incorporação de fluoreto em sua formulação não promoveu benefício adicional.

Palavras-Chave: Erosão Dentária, Esmalte Dentário, Caseínas, Fluoreto de Sódio.

Introdução

O desgaste dentário erosivo tem sido amplamente estudado [Peutzfeldt et al., 2014; Jaeggi e Lussi 2014; Salas et al., 2015; Kanzow et al., 2016; Mafla et al., 2017] devido ao aumento de sua prevalência [Jaeggi e Lussi, 2014; Salas et al., 2015; Mafla et al., 2017; Diniz e Lussi, 2017], decorrente de mudanças nos hábitos alimentares e do estilo de vida da sociedade moderna [Cassiano et al., 2016; Diniz e Lussi, 2017].

Tendo em vista a possibilidade de causar sintomatologia dolorosa de hipersensibilidade, além de limitações estéticas e também funcionais [Kanzow et al., 2016], é essencial que seja dada atenção às fases iniciais do processo erosivo [Lussi, 2014; Diniz e Lussi, 2017], adotando-se medidas adequadas para sua prevenção e controle [Jaeggi e Lussi, 2014].

Dentre as estratégias preventivas, o uso do complexo de caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo, o CPP-ACP, que é derivado de uma proteína do leite bovino [Cassiano et al., 2016], tem ganhado destaque e sido amplamente estudado. Os compostos de CPP-ACP possuem afinidade com as proteínas da película adquirida, unindo-se a ela e, portanto, fortalecendo sua capacidade protetora [Poggio et al., 2013; Kensche et al., 2016]. Além disso, tornam possível a precipitação mineral em superfícies erodidas, através da biodisponibilização de íons de cálcio e fosfato [Meyer-Lueckel et al., 2015].

O principal objetivo dos tratamentos de controle da erosão dentária deve ser a proteção da superfície contra a desmineralização ao invés de sua remineralização [Huysmans et al., 2014] e apesar de vários estudos já terem avaliado a ação das pastas de CPP-ACP aplicadas previamente ao desafio erosivo [Wang et al., 2011; Carvalho et al., 2013; Wang et al., 2014; Ceci et al., 2015; Oliveira et al., 2016; Zawaideh et al., 2017], os resultados controversos ainda não permitem uma conclusão sobre seu efeito inibidor da desmineralização, devido, principalmente, a ausência da padronização do protocolo. Além disso, a maioria desses estudos foram conduzidos em abordagens estritamente laboratoriais, não levando em consideração os vários fatores presentes no ambiente bucal que exercem influência na dinâmica erosiva [Poggio et al., 2013], como a saliva e a película adquirida [Lussi, 2014].

A literatura é escassa quando se trata do estudo da ação preventiva da pasta de CPP-ACP sobre lesões erosivas em condições *in situ* [Zawaideh et al., 2017]. Destaca-se, ainda, a falta de conhecimento ainda existente acerca do uso de CPP-ACP quando comparado ao fluoreto utilizado convencionalmente para higiene bucal e a ausência de tratamento.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi investigar a capacidade protetora contra a desmineralização erosiva do esmalte promovida pelas pastas de CPP-ACP, associada ou não

ao fluoreto, comparada ao fluoreto de sódio e a ausência de tratamento, frente a um desafio erosivo de curta duração, sob protocolo *in situ*. A hipótese nula testada foi a de que não há diferença na inibição da desmineralização erosiva do esmalte pelo uso das pastas contendo CPP-ACP e CPP-ACPF, comparadas às demais.

Materiais e Métodos

Delineamento experimental

O estudo foi realizado com um protocolo duplo-cego e randomizado, sendo composto por quatro fases de cinco horas cada. O fator em estudo foi o tratamento preventivo contra a erosão dentária: GI = pasta de CPP-ACP - MI Paste™, GC America Inc, USA, GII = pasta de CPP-ACP + 900 ppm de NaF - MI Paste Plus™, GC America Inc, USA, GIII = pasta fluoretada 900 ppm de NaF - Dilecta® Farmácia de Manipulação & Homeopatia, João Pessoa, PB, Brasil e GIV = pasta placebo - Dilecta® Farmácia de Manipulação & Homeopatia, João Pessoa, PB, Brasil. Espécimes de esmalte dentário bovino (n=192) foram divididos aleatoriamente entre os voluntários (n=12) que usaram um dispositivo palatino para aplicação intrabucal das pastas. A porcentagem de perda de dureza foi quantificada mediante os dados da dureza superficial do esmalte inicial e após o desafio erosivo.

Preparação das amostras de esmalte

Os dentes incisivos obtidos a partir de bovinos abatidos foram limpos e 365 espécimes de esmalte (4x4x3mm) foram preparados utilizando-se uma máquina de corte (ISOMET Low Speed Saw, Buehler Corp., Binghamton, NY, USA) e um disco de inox (Bosch 2, AS 60T INOX BF, 115 x 1x 22,23mm, Alemanha) e mantidos em solução de timol 0,1% em pH 7,0 [Alencar et al., 2014], sendo, em seguida, planificados e polidos com lixas d'água (granulações 600, 1200, 1500, 2000) (3M Company, Minnesota, USA), sob refrigeração.

A dureza superficial inicial (SH_I) foi determinada a partir dos valores médios de 5 endentações realizadas na região central do espécime equidistantes em 100 μm (Ponta Vickers, 100g, 15s, Micho hardness Tester FM-700, Future - Tech Corp., Fujisaki, Kawasaki-ku, Japão). Foram selecionados 192 espécimes com dureza de 324 KgF/mm^2 a 379 KgF/mm^2 , que foram esterilizados por exposição a gás de óxido de etileno [Alencar et al., 2014; Jordão et al., 2016].

Voluntários e Experimento *in situ*

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética institucional (protocolo nº 57770916.4.0000.5187) e seguiu as diretrizes da Declaração de Helsinki.

Participaram do estudo 12 voluntários (com idade variando de 22 a 33 anos), que satisfizeram os critérios de inclusão (fluxo salivar estimulado ≥ 1 ml/min, saúde bucal adequada, sem lesões dentárias cariosas, erosivas, nem apresentar desgaste dentário acentuado) e que não violaram os critérios de exclusão (com doenças sistêmicas, usuários de aparelho ortodôntico, gravidez, em aleitamento, ter feito uso de compostos fluoretados nos 2 meses anteriores ao início da coleta, ter sofrido radioterapia e quimioterapia, praticar atividades aquáticas em piscina clorada) [Prestes et al., 2013; Alencar et al., 2014; Jordão et al., 2016; Mendonça et al., 2017].

Os dispositivos intrabucais palatinos foram confeccionados em resina acrílica, a partir de modelo de gesso do arco superior dos voluntários, sendo um dispositivo intrabucal para cada fase do estudo [Alencar et al., 2014; Mendonça et al., 2017]. Cada um deles possuía duas cavidades verticais de 12 x 6 x 3 mm (comprimento x largura x profundidade), uma do lado direito e outra no lado esquerdo, contendo quatro espécimes de esmalte bovino, dois em cada lado. Os espécimes foram fixados com cera e cuidadosamente adaptados ao nível da superfície do dispositivo, com um fio ortodôntico de CrNi 0,6mm disposto transversalmente sobre eles, sem tocar em suas superfícies, a fim de evitar o contato da língua com a superfície dos espécimes [Jordão et al., 2016; Mendonça et al., 2017].

Com intuito de homogeneizar a dureza dos espécimes entre os grupos e voluntários, realizou-se a seleção planejada dos 192 espécimes conforme os valores de dureza iniciais, em seguida foi feita uma distribuição aleatória estratificada entre os grupos e os participantes, de forma que em todos os grupos em estudo fossem alocados espécimes com dureza mais baixa e mais alta. A localização dos espécimes no lado direito ou esquerdo do dispositivo também foi determinada aleatoriamente para cada voluntário e cada fase do estudo [Jordão et al., 2016].

Sete dias antes e durante o período experimental, padronizaram-se os procedimentos de higiene bucal [Alencar et al., 2014; Mendonça et al., 2017], tendo os voluntários utilizado os mesmo utensílios: escova de dentes (Oral B, Classic, Acumen Houseware Industry Co. Ltd, China), dentifício fluoretado (Colgate Total 12[®] Clean Mint, 90g, 1.450 ppm F, Colgate-Palmolive Industrial Ltda., São Paulo, Brasil) e fio dental (Sanifill, 100m, Cosmed Indústria de Cosméticos e Medicamentos S/A, Barueri, SP, Brasil). Os sujeitos da pesquisa foram avisados para não usar qualquer outro produto contendo fluoreto [Alencar et al., 2014; Jordão et al., 2016].

A cada fase do experimento o dispositivo intrabucal de cada voluntário foi entregue em estojo plástico, com gaze, água, juntamente com a pasta correspondente à fase em estudo acondicionada em embalagem plástica codificada por cores (por um pesquisador alheio à coleta e tabulação dos dados) e as instruções detalhadas para realização da etapa *in situ*, que foram reforçadas verbalmente.

Após 1h dos procedimentos de higienização bucal da manhã, os voluntários inseriram os dispositivos intrabucais e utilizaram durante 2h para formação da película adquirida [Mendonça et al., 2017]. Em seguida foi feita a aplicação intrabucal da pasta fornecida em volume aproximado de 0,5 ml nos espécimes, por meio digital, por 3 minutos, conforme recomendação do fabricante. Então, os participantes foram orientados a expelir o remanescente de pasta e não enxaguar a boca, sendo o dispositivo utilizado por 3 horas adicionais, período correspondente a substantividade das pastas a base de CPP-ACP. Durante o período de utilização dos dispositivos intrabucais os voluntários foram orientados a não comer ou beber. Em seguida, os dispositivos foram removidos da cavidade bucal e envoltos por gaze umedecida com água mineral (Crystal Águas do Nordeste Ltda, Fluoretos 0,04 mg/L, pH 6,21, Maceió, AL, Brasil), acondicionados em estojo plástico, sendo então recolhidos pelo pesquisador, para realização do desafio erosivo. As quatro fases desse estudo foram intercaladas com 1 dia de washout.

Lesão de Erosão

Após cada fase, realizou-se o desafio erosivo *ex situ* pela imersão do dispositivo intrabucal em 150 ml de solução ácido clorídrico (Vetec Química Fina Ltda., Rio de Janeiro, Brasil) a 0,01M e pH 2,3 durante 30 segundos, sob agitação e posterior lavagem com água deionizada [Tereza et al., 2016; Mendonça et al., 2017].

Medida da Dureza Superficial Final (SH_f) e Cálculo do Percentual de Perda de Dureza (%SHL)

Após a erosão, determinou-se a dureza final da superfície realizando cinco endentações com distâncias de 100 µm umas das outras e 100 µm das endentações iniciais, com os mesmos parâmetros de medição descritos acima [Jordão et al., 2016; Mendonça et al., 2017]. Os valores médios obtidos a partir da dureza inicial e final foram utilizados para calcular a porcentagem de perda de dureza superficial: $\%SHL = [(SH_i - SH_f) / (SH_i)] \times 100$ [Jordão et al., 2016].

Análise estatística

O software utilizado foi o SigmaPlot para Windows versão 12.3 (Software Systat 2011, Alemanha). As premissas de distribuição normal dos dados foram verificadas (Shapiro-Wilk) e os dados foram tratados pelo teste ANOVA de amostra repetidas, para comparar os efeitos dos tratamentos. Em seguida o teste de Tukey foi realizado para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

Os valores médios da dureza inicial e final e da porcentagem de perda de dureza dos grupos estudados são expressos na tabela 1.

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais, sendo que o efeito das pastas contendo CPP-ACP contribuiu para uma menor perda de dureza superficial em relação às pastas fluoretada e placebo ($p < 0,05$), não sendo observada diferença entre as pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF.

Tabela 1: Médias das durezas superficiais iniciais (SH_i), finais (SH_f) e porcentagem de perda de dureza (%SHL) de acordo com as fases experimentais ($n=12$).

Grupos	SH_i - KgF/mm ²	SH_f - KgF/mm ²	%SHL (\pm SD)
G 1 (CPP-ACP)	355,58 (\pm 15,44)	322,58 (\pm 21,15)	9,26 (\pm 3,48) ^a
G 2 (CPP-ACPF)	355,03 (\pm 12,99)	322,40 (\pm 15,52)	9,14 (\pm 1,73) ^a
G 3 (Fluoreto)	355,24 (\pm 13,60)	299,97 (\pm 20,24)	15,5 (\pm 3,94) ^b
G 4 (Placebo)	354,96 (\pm 15,51)	295,58 (\pm 19,57)	16,7 (\pm 4,07) ^b

*Grupos experimentais em que as médias são seguidas por diferentes letras diferem significativamente (Medidas Repetidas teste ANOVA / Tukey, $p < 0,05$).

Discussão

O diagnóstico e intervenção precoce em lesões erosivas iniciais permite proteger os dentes dos danos adicionais decorrentes do desgaste erosivo [Peutzfeldt et al., 2014]. Nessa perspectiva, o presente estudo avaliou o uso de pastas contendo o complexo de CPP-ACP (suplementada ou não pelo fluoreto) em relação a um dentífrico fluoretado convencional e a uma pasta placebo. Mediante o protocolo *in situ* adotado, foi possível rejeitar parcialmente a hipótese nula inicialmente formulada, uma vez que o uso das pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF proporcionou uma menor perda de dureza quando comparada à pasta fluoretada e a placebo.

Como o primeiro estágio de desenvolvimento da lesão erosiva é caracterizado pela

diminuição da resistência mecânica e redução da dureza da camada superficial [Kanzow et al., 2016], a variação da dureza superficial foi a utilizada para mensurar o efeito da aplicação das pastas de CPP-ACP previamente ao desafio erosivo.

O protocolo de tratamento *in situ* de curta duração, ou seja, os ensaios simplificados, oferecem a vantagem de facilitar a fidelidade dos voluntários na condução precisa do protocolo de tratamento proposto [Alencar et al., 2016]. É oportuno destacar também que as pastas utilizadas nesse estudo foram do mesmo sabor, proporcionando, portanto, estímulos gustativos equivalentes. Ademais, tomou-se o cuidado para manter a película adquirida previamente formada sem alterações, tendo em vista que sua presença é importante no mecanismo preventivo do CPP-ACP [Poggio et al., 2013; Kensche et al., 2016].

Ressalta-se ainda que as endentações iniciais foram localizadas após o desafio erosivo, para garantir a ausência de desgaste dentário erosivo, ou seja, que a superfície avaliada ao final do estudo e a superfície avaliada inicialmente, tratada e erodida eram correspondentes [Alencar et al., 2014].

Para confecção da lesão de erosão desse estudo optou-se pelo uso do ácido clorídrico, que além de simular o ácido presente no suco gástrico, tem sido utilizado em diversos estudos *in situ* [Young e Tenuta, 2011; Kensche et al., 2016]. A realização do desafio foi feita *ex vivo* para garantir maior controle e padronização da lesão erosiva e, além disso, a lesão de erosão foi confeccionada imediatamente após o uso do dispositivo, pois, segundo Jordão et al. [2016] a manutenção prolongada do dispositivo fora do ambiente bucal pode vir a modificar algumas das proteínas da película adquirida.

Atualmente o tratamento padrão ouro para o controle de lesões erosivas é o uso do fluoreto estanhoso, pois a camada precipitada na superfície do esmalte em decorrência de seu uso é mais resistente aos ácidos e menos susceptível à dissolução, devido a incorporação do íon metálico à camada superficial do esmalte [White et al., 2012]. É preciso destacar que, apesar de a literatura mostrar essa maior efetividade do fluoreto estanhoso no controle da erosão dentária [Lussi, 2014; Bellamy et al., 2014; Hooper et al., 2014; Faller e Eversole, 2014], o uso de dentifrícios e enxaguatórios contendo esses íons não são adequados para uso rotineiro, devido ao seu baixo pH e a sua propensão para manchar os dentes [Jones et al., 2013; Algarni et al., 2015].

A escolha do fluoreto de sódio para compor um dos grupos de estudo foi embasada no seu uso habitual pela população, uma vez que os fluoretos são usualmente reconhecidos como os ingredientes ativos mais comuns nas preparações profiláticas bucais [Kensche et al., 2016]. Além disso, visto que seu uso tem efeito já comprovado no controle da cárie dentária

[Lussi e Carvalho, 2015], seria interessante que também proporcionassem efeito inibidor sobre a erosão dentária [Hove et al., 2015]. Porém, não foi observada diferença estatisticamente significativa na proteção contra a erosão oferecida pela pasta fluoretada quando comparada à placebo, nem foi observado efeito adicional na pasta de CPP-ACP com fluoreto incorporado.

A ação protetora do fluoreto de sódio na erosão dentária provavelmente se dá pela indução da formação de uma camada de fluoreto de cálcio sobre a superfície dentária, protegendo-a dos agentes erosivos [Jones et al., 2013; João-Souza et al., 2015] e dificultando seu contato com o esmalte subjacente [Magalhães et al., 2011]. Para que a proteção contra erosão promovida pelos compostos fluoretados seja completamente efetiva, a camada protetora formada sobre a superfície do esmalte deve ser densa o suficiente para construir uma barreira física que proteja o esmalte subjacente do contato com os agentes erosivos, além disso, ser suficientemente estável [Lussi e Carvalho, 2015].

Entretanto, além de possuir espessura muito fina [Medeiros et al., 2016; Fita e Kaczmarek., 2016], a camada depositada pelo uso do fluoreto de sódio é instável e pouco resistente [Algarni et al., 2015], não recobrando a superfície dentária completamente [Medeiros et al., 2016]. Assim, a proteção oferecida pelo uso do fluoreto é de curta duração [Huysmans et al., 2014], sendo facilmente solubilizada ou tornando-se pouco eficaz ao ataque ácido [Jones et al., 2013], o que explica o efeito limitado da pasta fluoretada utilizada nesse estudo na inibição da desmineralização erosiva.

Em contrapartida, os resultados mostraram que as pastas que possuíam o composto de CPP-ACP em sua composição, independente da presença do fluoreto, ofereceram uma maior proteção contra a desmineralização erosiva, uma vez que a perda de dureza pós protocolo erosivo foi significativamente menor nos grupos tratados com as pastas de CPP-ACP e CPP-ACPF, quando comparados à pasta fluoretada e a placebo.

A ação protetora do CPP-ACP se dá pela modificação proteica e potencialização da capacidade defensora da película adquirida [Kensche et al., 2016]. Além de funcionar como barreira física, reduzindo a permeabilidade da película e aumentando sua tenacidade, oferece as suas moléculas de cálcio e fosfato para serem dissolvidas previamente à dissolução das moléculas do esmalte dentário, quando submetidos a um desafio erosivo [Kensche et al., 2016]. Assim, o melhor efeito protetor das pastas de CPP-ACP certamente se deu pela formação de uma camada protetora mais espessa e resistente sob a superfície dentária.

A superioridade dos grupos experimentais deste estudo contendo CPP-ACP divergiram de alguns estudos que fizeram o uso das pastas previamente ao desafio erosivo

[Wang et al., 2011; Oliveira et al., 2016]. Entretanto, é importante destacar que esses estudos foram conduzidos em abordagens estritamente laboratoriais, em que a saliva e a película adquirida, elementos cruciais na prevenção da erosão dentária [Lussi, 2014], não estão presentes.

Uma vez que o fluoreto presente na pasta de CPP-ACPF é o fluoreto de sódio, justifica-se a ausência da proteção adicional a ser oferecida por essa pasta, quando compara à pasta de CPP-ACP isolada na erosão, neste protocolo in situ. Entretanto, em estudos de longa duração a sua adição ao CPP-ACP pode representar um benefício adicional e por isso deve ser testado.

Os resultados desse estudo suportam o que já tem sido relatado na literatura, mostrando que o fluoreto de sódio utilizado convencionalmente [Magalhães et al., 2011] não teve papel importante na prevenção da erosão dentária, mesmo tendo ação bem estabelecida contra a cárie [White et al., 2012; Jones et al., 2013; Lussi e Carvalho, 2015]. Assim sendo, mesmo que os dentifrícios com fluoreto de sódio sejam comumente os mais usados e adotados como principal veículo de fluoreto [White et al., 2012], seu uso precisa ser associado a outros métodos preventivos, a exemplo do uso do CPP-ACP, quando o intuito for a prevenção da erosão dentária.

Em conclusão, sugere-se que o uso da pasta contendo CPP-ACP, associado ou não ao fluoreto, usada previamente ao desafio erosivo oferece benefício preventivo sobre as lesões iniciais de erosão dentária, em relação à pasta fluoretada e a ausência de tratamento. Destaca-se também que estudos adicionais são necessários para avaliar o efeito dessa estratégia preventiva no controle do desgaste dentário erosivo.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos voluntários que participaram desse estudo, às coordenações dos Laboratório Multidisciplinar de Materiais e Estruturas Ativas e do Laboratório de Metalografia da Universidade Federal de Campina Grande pelo uso de seus equipamentos, à empresa Acecil Central de Esterelização Comércio e Indústria Ltda pela esterilização dos espécimes, à Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro. Os financiadores não tiveram qualquer papel na concepção do estudo, na coleta e análise de dados, na decisão de publicar ou na preparação do manuscrito.

Referências

- Alencar CR, Magalhaes AC, Machado MAAM, Oliveira TM, Honorio HM, Rios D: In situ effect of a commercial CPP-ACP chewing gum on the human enamel initial erosion. *J Dent* 2014; 42: 1502-1507.
- Alencar CR, Mendonça FL, Guerrini LB, Jordão MC, Oliveira GC, Honório HM, Magalhães AC, Rios D: Effect of different salivary exposure times on the rehardening of acid-softened enamel. *Braz Oral Res* 2016; 30: 1-7.
- Algarni AA, Mussi MC, Moffa EB, Lippert F, Zero DT, Siqueira WL, Hara AT: The impact of stannous, fluoride ions and its combination on enamel pellicle proteome and dental erosion prevention. *Plos One* 2015; 10: 1-11.
- Bellamy PG, Harris R, Date RF, Mussett AJ, Manley A, Barker ML, Hellin N, West NX: In situ clinical evaluation of a stabilised, stannous fluoride dentifrice. *Int Dent J* 2014; 64: 43-50.
- Carvalho FG, Brasil VL, Silva Filho TJ, Carlo HL, Santos RL, Lima BA: Protective effect of calcium nanophosphate and CPP-ACP agents on enamel erosion. *Braz Oral Res* 2013; 27: 463-470.
- Cassiano LP, Charone S, Souza JG, Leizico LC, Pessan JP, Magalhães AC, Buzalaf MA: Protective Effect of Whole and Fat-Free Fluoridated Milk, Applied before or after Acid Challenge, against Dental Erosion. *Caries Res* 2016; 50: 111-116.
- Ceci M, Mirando M, Beltrami R, Chiesa M, Poggio C: Protective effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel erosion: atomic force microscopy studies. *Scanning* 2015; 37: 327-334.
- Diniz MB, Lussi A: Dental Erosion in Pediatric Dentistry: What is the Clinical Relevance?. *Pesqui bras odontopediatria clín integr* 2017; 17: 1-2.
- Faller RV, Eversole SL: Protective effects of SnF₂ - Part III. Mechanism of barrier layer attachment. *Int Dent J* 2014; 64: 16-21.
- Fita K, Kaczmarek U: The impact of selected fluoridated toothpastes on dental erosion in profilometric measurement. *Adv Clin Exp Med* 2016; 25: 327-333.
- Hooper S, Seong J, Macdonald E, Claydon N, Hellin N, Barker ML, He T, West NX: A randomised in situ trial, measuring the anti-erosive properties of a stannous-containing sodium fluoride dentifrice compared with a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. *Int Dent J* 2014; 64: 35-42.

- Hove LH, Stenhagen KR, Mulic A, Holme B, Tveit AB: My caries-preventive fluoride regimes have an effect on dental erosive wear? An in situ study. *Acta Odontol Scand* 2015; 73: 114-20.
- Huysmans MC, Young A, Ganss C: The role of fluoride in erosion therapy. *Monogr Oral Sci* 2014; 25: 230-243.
- Jaeggi T, Lussi A: Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci* 2014; 25: 55-73.
- João-Souza SH, Bezerra SJ, Borges AB, Aranha AC, Scaramucci T: Effect of sodium fluoride and stannous chloride associated with Nd: YAG laser irradiation on the progression of enamel erosion. *Lasers Med Sci* 2015; 30: 2227-2232.
- Jones SB, Rees GD, Shellis RP, Barbour ME: The effect of monoalkyl phosphates and fluoride on dissolution of hydroxyapatite and interactions with saliva. *Caries Res* 2013; 47: 355-363.
- Jordão MC, Alencar CR, Mesquita IM, Buzalaf MA, Magalhães AC, Machado MA, Honório HM, Rios D: In situ Effect of Chewing Gum with and without CPP-ACP on Enamel Surface Hardness Subsequent to ex vivo Acid Challenge. *Caries Res* 2016; 50: 325-330.
- Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A: Etiology and pathogenesis of dental erosion. *Quintessence Int* 2016; 47: 275-278.
- Kensche A, Pötschke S, Hannig C, Richter G, Hoth-Hannig W, Hannig M: Influence of Calcium Phosphate and Apatite Containing Products on Enamel Erosion. *ScientificWorldJournal* 2016; 2016: 1-12.
- Lussi A, Carvalho TS: The Future of Fluorides and Other Protective Agents in Erosion Prevention. *Caries Res* 2015; 49: 18-29.
- Lussi A: Introduction. Stabilized stannous fluoride and dental erosion. *Int Dent J* 2014; 64: 2-3.
- Mafla AC, Cerón-Bastidas XA, Muñoz-Ceballos ME, Vallejo-Bravo DC, Fajardo-Santacruz MC: Prevalence and extrinsic risk factors for dental erosion in adolescents. *J Clin Pediatr* 2017; 41: 102-111.
- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A: Fluoride in dental erosion. *Monogr Oral Sci* 2011; 22: 158-170.
- Medeiros MI, Carlo HL, Lacerda-Santos R, Lima BA, Souza FB, Rodrigues JA, Carvalho FG: Thickness and nanomechanical properties of protective layer formed by TiF₄ varnish on enamel after erosion. *Braz Oral Res* 2016; 30: 1-11.

- Mendonça FL, Jordão MC, Ionta FQ, Buzalaf MA, Honório HM, Wang L, Rios D: In situ effect of enamel salivary exposure time and type of intraoral appliance before an erosive challenge. *Clin Oral Investig* 2017; DOI 10.1007/s00784-016-2043-5.
- Meyer-Lueckel H, Wierichs RJ, Schellwien T, Paris S: Remineralizing efficacy of a cpp-acp cream on enamel caries lesions in situ. *Caries Res* 2015; 49: 56-62.
- Oliveira DSB, Santin GC, Honorio HM, Rios D, Gatton PH, Silva LAB, Romano FL, Silva RAB: Single application of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste-based paste prevents in vitro erosive wear. *European J Gen Dent* 2016; 5: 69-73.
- Peutzfeldt A, Jaeggi T, Lussi A: Restorative therapy of erosive lesions. *Monogr Oral Sci* 2014; 25: 253-261.
- Poggio C, Lombardini M, Vigorelli P, Ceci M: Analysis of dentin enamel remineralization by a CPP-ACP paste: AFM and SEM study. *Scanning* 2013; 35: 366-374.
- Prestes L, Souza BM, Comar LP, Salomão PA, Rios D, Magalhães AC: In situ effect of chewing gum containing cpp-acp on the mineral precipitation of eroded bovine enamel - a surface hardness analysis. *J Dent* 2013; 21: 747-751.
- Salas MM, Nascimento GG, Vargas-Ferreira F, Tarquinio SB, Huysmans MC, Demarco FF: Diet influenced tooth erosion prevalence in children and adolescents: Results of a meta-analysis and meta-regression. *J Dent* 2015; 43: 865-75.
- Tereza GP, de Oliveira GC, de Andrade Moreira Machado MA, de Oliveira TM, da Silva TC, Rios D: Influence of removing excess of resin-based materials applied to eroded enamel on the resistance to erosive challenge. *J Dent* 2016; 47: 49-54.
- Wang CP, Huang SB, Liu Y, Li JY, Yu HY: The cpp-acp relieved enamel erosion from a carbonated soft beverage: an in vitro afm and xrd study. *Arch Oral Biol* 2014; 59: 277-282.
- Wang X, Megert B, Hellwig E, Neuhaus KW, Lussi A: Preventing erosion with novel agents. *J Dent* 2011; 39: 163-170.
- White AJ, Jones SB, Barbour ME, Churchley DR, Gracia LH, Rees GD: Inhibition of erosive dissolution by sodium fluoride: evidence for a dose-response. *J Dent* 2012; 40: 654-660.
- Young A, Tenuta LMA: Initial erosion models. *Caries Res* 2011; 45(suppl 1): 33-42.
- Zawaideh FI, Owais AI, Mushtaha S: Effect of CPP-ACP or a Potassium Nitrate Sodium Fluoride Dentifrice on Enamel Erosion Prevention. *J Clin Pediatr Dent* 2017; 41: 135-140.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados desse estudo sugerem que o uso de pastas contendo CPP-ACP em sua composição aplicadas previamente à desmineralização erosiva é capaz de reduzir o amolecimento do esmalte. No entanto, a presença do fluoreto associado ao CPP-ACP não foi capaz de potencializar o efeito protetor. Além disso, o fluoreto de sódio, utilizado comumente nos procedimentos de higiene bucais diários, não apresentou ação importante na prevenção das lesões erosivas iniciais, quando comparada à pasta placebo.

Dentre as limitações do presente estudo aponta-se a ausência de cálculo amostral, porém pode-se garantir que a quantidade de voluntários foi suficiente, uma vez que foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos. Entre os obstáculos para execução desse estudo destaca-se a dificuldade em conseguir voluntários e conscientizá-los da necessidade de comprometimento no seguimento rigoroso do protocolo proposto.

Ressalta-se, ainda, que esse estudo seguiu as recomendações presentes na literatura, assemelhando-se à situação clínica natural, e, portanto, oferece informações pertinentes à realidade do ambiente bucal.

Por se tratar de um ensaio de curta duração, não se pode inferir sobre a efetividade dos grupos testados sobre os estágios mais avançados da erosão. Logo, sugere-se que a ação preventiva das pastas de CPP-ACP sob o desgaste erosivo deve ser avaliada em estudos de ciclagem erosiva.

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.
- ALGARNI, A. A.; MUSSI, M. C.; MOFFA, E. B. *et al.* The impact of stannous, fluoride ions and its combination on enamel pellicle proteome and dental erosion prevention. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 6, p. 1-11, jun., 2015.
- 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.
- AMAECHEI, B. T.; HIGHAM, S. M. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. **J. Dent.**, Guildford, v. 29, n. 5, p. 371-6, jul., 2001.
- AMARAL, C. M.; MIRANDA, M. E.; CORREA, D. S. *et al.* Sodium fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate cream plus sodium fluoride efficacy in preventing enamel erosion in a simulated oral environment study model. **Indian J. Dent Res.**, Ahmedabad, v. 25, n. 4, p. 464-9, jul./ago., 2014.

BATISTA, G. R.; TORRES, C. R. G.; SENER, B. *et al.* Artificial saliva formulations versus human saliva pretreatment in dental erosion experiments. **Caries Res.**, Basel, v. 50, n. 1, p. 78-86, fev., 2016.

BAUMANN, T.; KOZIK, J.; LUSSI, A. *et al.* Erosion protection conferred by whole human saliva, dialysed saliva, and artificial saliva. **Sci. Rep.**, Londres, v.6, n. 34760, p. 1-8, out., 2016.

BELLAMY, P. G.; HARRIS, R.; DATE, R. F. *et al.* In situ clinical evaluation of a stabilised, stannous fluoride dentifrice. **Int. Dent. J.**, Londres, v. 64, suppl. 1, p. 43-50, mar., 2014.
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.

BUZALAF, M. A.; MAGALHÃES, A. C.; WIEGAND, A. Alternatives to fluoride in the prevention and treatment of dental erosion. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 25, n. 1, p. 244-52, jun., 2014.

CARVALHO, F. G.; BRASIL, V. L.; SILVA FILHO, T. J. *et al.* Protective effect of calcium nanophosphate and cpp-acp agents on enamel erosion. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 463-70, nov./dez., 2013.

CASSIANO, L. P.; CHARONE, S.; SOUZA, J. G. *et al.* Protective Effect of Whole and Fat-Free Fluoridated Milk, Applied before or after Acid Challenge, against Dental Erosion. **Caries Res.**, Basel, v. 50, n. 2, p. 111-6, mar., 2016.

CECI, M.; MIRANDO, M.; BELTRAMI, R. *et al.* Protective effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel erosion: atomic force microscopy studies. **Scanning**, Hoboken, v. 37, n. 5, p. 327-34, set./out., 2015.

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.

EBRAHIMI, M.; MEHRABKHANI, M.; AHRARI, F. *et al.* The effects of three remineralizing agents on regression of white spot lesions in children: A two-week, single-blind, randomized clinical trial. **J. Clin. Exp. Dent.**, Espanha, v. 9, n. 5, p. 641-8, maio, 2017.

FALLER, R. V.; EVERSOLE, S. L. Protective effects of SnF₂ - Part III. Mechanism of barrier layer attachment. **Int. Dent. J.**, Londres, v. 64, suppl. 1, p. 16-21, mar., 2014.

FERRAZZANO, G. F.; CODA, M.; CANTILE, T. *et al.* SEM investigation on casein phosphopeptides capability in contrasting cola drinks enamel erosion: an in vitro preliminary study. **Eur. J. Paediatr. Dent.**, Carimate, v. 13, n. 4, p. 285-8, dez., 2012.

FITA, K.; KACZMAREK, U. The impact of selected fluoridated toothpastes on dental erosion in profilometric measurement. **Adv. Clin. Exp. Med.**, Wroclaw, v. 25, n. 2, p. 327-33, mar./abril, 2016.

GÜÇLÜ, Z. A.; ALAÇAM, A.; COLEMAN, N. J. A 12-Week Assessment of the Treatment of White Spot Lesions with CPP-ACP Paste and/or Fluoride Varnish. **Biomed Res. Int.**, New York, v. 2016, n. 8357621, p. 1-9, out., 2016

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.

HOOPER, S.; SEONG, J.; MACDONALD, E. *et al.* A randomised in situ trial, measuring the anti-erosive properties of a stannous-containing sodium fluoride dentifrice compared with a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice. **Int. Dent. J.**, Londres, v. 64, suppl. 1, p. 35-42, mar., 2014.

HOVE, L. H.; STENHAGEN, K. R.; MULIC, A. *et al.* My caries-preventive fluoride regimes have an effect on dental erosive wear? An in situ study. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 73, n. 2, p. 114-20, fev., 2015.

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.

IJIMA, Y.; CAI, F.; SHEN, P. *et al.* Acid Resistance of Enamel Subsurface Lesions Remineralized by a Sugar-Free Chewing Gum Containing Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate. **Caries Res.**, Basel, v. 38, n. 6, p. 551-6, nov./dez., 2004.

IMFELD, T. Dental erosion. Definition, classification and links. **Eur. J. Oral Sci.**, Copenhagen, v. 104, n. 2, p. 151-5, abr., 1996.

JAEGGI, T.; LUSSI, A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 25, p. 55-73, jun., 2014.

JOÃO-SOUZA, S. H.; BEZERRA, S. J.; BORGES, A. B. *et al.* Effect of sodium fluoride and stannous chloride associated with Nd: YAG laser irradiation on the progression of enamel erosion. **Lasers Med. Sci.**, London, v. 30, n. 9, p. 2227-32, dez., 2015.

JOHANSSON, A. K.; OMAR, R.; CARLSSON, G. E. *et al.* Dental erosion and its growing importance in clinical practice: from past to present. **Int. J. Dent.**, Cairo, v. 2012, n. 632907, p. 1-17, mar., 2012.

JONES, S. B.; REES, G. D.; SHELLIS, R. P. *et al.* The effect of monoalkyl phosphates and fluoride on dissolution of hydroxyapatite and interactions with saliva. **Caries Res.**, Basel, v. 47, n. 5, p. 355-63, abril, 2013.

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.; PÖTSCHKE, S.; HANNIG, C. *et al.* Influence of Calcium Phosphate and Apatite Containing Products on Enamel Erosion. **ScientificWorldJournal**, Boynton Beach, v. 2016, n. 7959273, p. 1-12, jun., 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. Introduction. Stabilized stannous fluoride and dental erosion. **Int. Dent. J.**, Londres, v. 64, suppl. 1, p. 2-3, mar., 2014.

LUSSI, A.; HELLWIG, E. Risk assessment and causal preventive measures. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 25, p. 220-29, jun., 2014.

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.

LUSSI, A.; CARVALHO, T. S. Erosive tooth wear: a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 25, p. 1-15, jun., 2014.

LUSSI, A.; CARVALHO, T. S. The Future of Fluorides and Other Protective Agents in Erosion Prevention. **Caries Res.**, Basel, v. 49, Suppl 1, p. 18-29, abril, 2015.

MAFLA, A. C.; CERÓN-BASTIDAS, X. A.; MUNOZ-CEBALLOS, M. E. *et al.* Prevalence and extrinsic risk factors for dental erosion in adolescents. **J. Clin. Pediatr. Dent.**, Birmingham, v. 41, n. 2, p. 102-11, 2017.

MAGALHÃES, A. C.; WIEGAND, A.; RIOS, D. *et al.* Insights into preventive measures for dental erosion. **J. Appl. Oral Sci.**, Bauru, v. 17, n. 2, p. 75-86, mar./abril, 2009.

MAGALHÃES, A. C.; WIEGAND, A.; RIOS, D. *et al.* Fluoride in dental erosion. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 22, p. 158-70, jun., 2011.

MANTON, D. J.; CAI, F.; YUAN, Y. *et al.* Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate added to acidic beverages on enamel erosion in vitro. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v. 55, n. 3, p. 275-9, set., 2010.

MEDEIROS, M. I.; CARLO, H. L.; LACERDA-SANTOS, R. *et al.* Thickness and nanomechanical properties of protective layer formed by TiF₄ varnish on enamel after erosion. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 1-11, maio, 2016.

MENDONÇA, F. L. Remineralização e Desmineralização Erosiva do Esmalte Considerando Diferentes Tempos de Ação Salivar e Dispositivos Intrabucais – 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.

MEYER-LUECKEL, H.; WIERICHS, R. J.; SCHELLWIEN, T. *et al.* Remineralizing efficacy of a cpp-acp cream on enamel caries lesions in situ. **Caries Res.**, Basel, v. 49, n. 1, p. 56-62, nov., 2015.

MOEZIZADEH, M.; ALIM, A. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste and sodium fluoride mouthwash on the prevention of dentine erosion: An *in vitro* study. **Journal of Conservative Dentistry: JCD.**, Índia, v. 17, n. 3, p. 244-49, maio/jun., 2014.

OLIVEIRA, A. F.; OLIVEIRA DINIZ, L. V.; FORTE, F. D. *et al.* In situ effect of a CPP-ACP chewing gum on enamel erosion associated or not with abrasion. **Clin. Oral Investig.**, Berlin, v. 21, n. 1, p. 339-46, jan., 2017.

OLIVEIRA, D. S. B.; SANTIN, G. C.; HONÓRIO, H. M. *et al.* Single application of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste-based paste prevents *in vitro* erosive wear. **European J. Gen. Dent.**, Índia, v 5, n. 2, p. 69-73, maio/ago., 2016.

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.

PEUTZFELDT, A.; JAEGGI, T.; LUSSI, A. Restorative therapy of erosive lesions. **Monogr. Oral Sci.**, Basel, v. 25, p. 253-61, jun., 2014.

PIEKARZ, C.; RANJITKAR, S.; HUNT, D. *et al.* An in vitro assessment of the role of tooth mousse in preventing wine erosion. **Aust. Dent. J.**, Sydney, v. 53, n. 1, p. 22-5, mar., 2008.

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.

POGGIO, C.; GULINO, C.; MIRANDO, M. *et al.* Preventive effects of diferente protective agents on dentin erosion: An in vitro investigation. **J. Clin. Exp. Dent.**, Espanha, v. 9, n. 1, p. 7-12, jan., 2017.

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.

RALLAN, M.; CHAUDHARY, S.; GOSWAMI, M. *et al.* Effect of various remineralising agents on human eroded enamel of primary teeth. **Eur. Arch. Paediatr. Dent.**, Leeds, v. 14, n. 5, p. 313-8, out., 2013.

RAMALINGAM, L.; MESSER, L. B.; REYNOLDS, E. C. Adding Casein Phosphopeptide-amorphous Calcium Phosphate to Sports Drinks to Eliminate In Vitro Erosion. **Pediatr. Dent.**, Chicago, v. 27, n. 1, p. 61-7, jan./fev., 2005.

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.

REES, J.; LOYN, T.; CHADWICK, B. Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. **J. Dent.**, Guildford, v. 35, n. 4, p. 355-7, abril, 2007.

REYNOLDS, E. C. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. **Adv. Dent Res.**, Washington, v. 21, n. 1, p. 29-29, ago., 2009.

RIOS, D.; HONÓRIO, H. M.; MAGALHÃES, A. C. *et al.* Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. **Caries Res.**, Basel, v. 40, n. 3, p. 218-23, maio, 2006.

SALAS, M. M. S.; NASCIMENTO, G. G.; VARGAS-FERREIRA, F. *et al.* Diet influenced tooth erosion prevalence in children and adolescents: Results of a meta-analysis and meta-regression. **J. Dent.**, Guildford, v. 43, n. 8, p. 865-75, ago., 2015.

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

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.

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.

UHLEN, M. M.; MULIC, A.; HOLME, B. *et al.* The susceptibility to dental erosion differs among individuals. **Caries Res.**, Basel, v. 50, n. 2, p. 117-23, mar., 2016

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.

VENTURA, T. M. D. S.; CASSIANO, L. P. S.; SOUZA E SILVA, C. M. *et al.* The proteomic profile of the acquired enamel pellicle according to its location in the dental arches. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 79, n. 2017, p. 20-9, jul., 2017.

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.

WANG, X.; MEGERT, B.; HELLWIG, E. *et al.* Preventing erosion with novel agents. **J. Dent.**, Guildford, v. 39, n. 2, p. 163-70, fev., 2011.

WEGEHAUPT, F. J.; TAUBÖCK, T. T.; STILLHARD, A. *et al.* Influence of extra- and intra-oral application of CPP-ACP and fluoride on rehardening of eroded enamel. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 70, n. 3, p. 177-83, maio, 2012.

WHITE, A. J.; GRACIA, L. H.; BARBOUR, M. E. Inhibition of dental erosion by casein and casein-derived proteins. **Caries Res.**, Basel, v. 45, n.1, p. 13-20, dez., 2010.

WHITE, A. J.; JONES, S. B.; BARBOUR, M. E. *et al.* Inhibition of erosive dissolution by sodium fluoride: evidence for a dose-response. **J. Dent.**, Guildford, v. 40, n. 8, p. 654-60, ago., 2012.

WIEGAND, A.; ATTIN, A. Randomised in situ trial on the effect of milk and cpp-acp on dental erosion. **J. Dent.**, Guildford, v. 42, n. 9, p. 1210-5, set., 2014.

WIEGAND, A.; WEGEHAUPT, F.; WERNER, C. *et al.* Susceptibility of acid-softened enamel to mechanical wear - ultrasonication versus toothbrushing abrasion. **Caries Res.**, Basel, v. 41, n. 1, p. 56-60, dez., 2007.

YENGOPAL, V.; MICKENAUTSCH, S. Caries preventive effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v. 67, n. 6, p. 321-32, set., 2009.

YOUNG, A.; TENUTA, L. M. A. Initial erosion models. **Caries Res.**, Basel, v. 45, suppl. 1, p. 33-42, maio, 2011.

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.

ZHENG, L.; ZHENG, J.; ZHANG, Y. F. *et al.* Effect of CPP-ACP on the remineralization of acid-eroded human tooth enamel: nanomechanical properties and microtribological behaviour study. **J. Phys. D: Appl. Phys.**, v. 46, n. 40, p. 1-9, set., 2013.

ZHOU, C.; ZHANG, D.; BAI, Y. *et al.* Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralization of primary teeth early enamel lesions. **J. Dent.**, Guildford, v. 42, n. 1, p. 21-9, jan., 2014.

APÊNDICES

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

1. Durante todo o estudo você deverá utilizar o creme dental, escova de dente e fio dental entregues por nós.

2. O estudo é composto por quatro fases (uma fase por dia, com um dia de descanso entre cada uma delas). Você deverá ser solicitado a utilizar um dispositivo intrabucal palatino (um para cada fase) contendo quatro 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

Grupo IV. Tratamento D

3. Passo a passo (Repetido a cada grupo - após um dia de descanso):

- Após o café da manhã e realização dos procedimentos de higiene bucal, aguarde 1 hora para inserir o aparelho;
- Utilize o aparelho durante **2 horas** (**evitar** ficar passando a **língua** nos espécimes);
- Aplique a pasta fornecida com o seu dedo limpo e seco nos quatro 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);
- Cuspa à vontade (com o aparelho na boca) e deixe a boca **sem enxaguar***;
- Use o dispositivo durante mais **3 horas** (passar os 30 minutos iniciais sem beber água);
- Remova o dispositivo e envolva-o em gaze embebida com a água fornecida e coloque-o no estojo fornecido (**não tocar nos espécimes**).

* 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 algum incômodo ou dúvida durante o uso do aparelho, entrar em contato imediatamente:

Mestranda - Liege: (83) 9-8615.0813 - oi / (83) 9-9626.2564 - tim / liege_helena@hotmail.com

Coorientadora - Profa. Dra. Catarina (83) 9-9822.1897
catarina.rba@gmail.com

APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Universidade Estadual da Paraíba
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

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, 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 redeposição 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 duas etapas. As duas etapas contêm 4 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 (durante 4h na primeira etapa e 2h na segunda), 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. A única vantagem para o voluntário será a realização de uma limpeza profissional de seus dentes, antes do início do

experimento. 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 Liege Helena Freitas Fernandes, através do telefone (83)9-9626.2564 ou através do e-mail: *liege_helena@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.

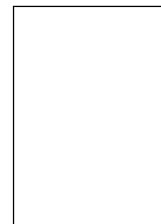
Consentimento Livre e Esclarecido

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



Impressão dactiloscópica

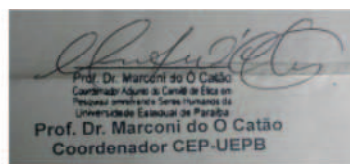
Orientador

Sujeito da Pesquisa

ANEXOS

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 fosfopéptideo - 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 (SH_i), erodidos *in vitro* pela imersão em Coca Cola® por 3 minutos (SH_{des1}) 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 *washout*. Após isso, a dureza superficial (SH_{re}) 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 (SH_{des2}), 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 (SH_i) 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 (SH_f) 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, tornando 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

intra-buciais, 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 intra-buciais 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.

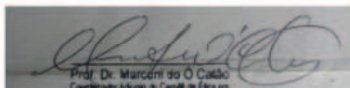
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Ao analisar os documentos necessários para a integração do protocolo científico, encontramos a Folha

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. Marconi do O Galão
Coordenador Adjunto do Comitê de Ética em
Pesquisa envolvendo Seres Humanos da
Universidade Estadual de Paraíba
Prof. Dr. Marconi do O Galão
Coordenador CEP-UEPB

ANEXO B - NORMAS DO PERIÓDICO CARIES RESEARCH

Preparation of Manuscripts

Text should be one-and-a-half-spaced, with wide margins. All pages and all lines must 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. Lines in the manuscript must be numbered consecutively from the title page until the last page. Submissions which do not conform to these simple guidelines will be returned to the author.

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;
- 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 if an author or their employer holds patent(s) on a product used in the study, or payment to an investigator from organisations with an interest in the study (including employment, consultancies, honoraria, ownership of shares, travel grant). 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.

Information detailing the power and sample size calculations must be included in the manuscript.

Randomized 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.

Randomized clinical trials must be registered at clinicaltrials.gov or similar national authority and the trial number included in the manuscript.

Trials beginning after 1 July 2012 must be registered before recruitment of the first patient. Caries Research will accept 'retrospective registration' of trials that began before 1 July 2012 (retrospective meaning registration occurs after patient enrolment begins). When submitting a paper on a clinical trial, the trial registration number should be stated at the end of the abstract in the following format: Trial registration: [name of the trial registry, the registry URL and the trial registration number].

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.

In any manuscript involving microradiography, the following information must be included: the radiation source and filters used and the kV used (this determines the wavelength of radiation and hence the validity of using Angmar's equation).

Manuscripts on experimental enamel caries should show that the lesions retain a relatively well-preserved surface layer, i.e. are not surfacesoftened lesions. Proof of surface integrity can be provided either as illustrations in the paper or as supplementary material for the reviewers. Transverse microradiography, polarized light microscopy of a section immersed in water or backscattered scanning electron microscopy of a polished cross-section can be used to provide the necessary proof. To allow the nature of experimental changes to be assessed, microradiographs or micrographs should be provided to show part of the experimental lesion and the adjacent control (e.g. figure 2 of Zaura et al.: *Caries Res* 2007;41:489–492). Again, these images can be provided as part of the paper or as supplementary material for review purposes.

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 provide the position(s) of author(s) employed by commercial firms. This section should describe the source(s) of funding that have supported the work including relevant grant numbers. Please also include this sentence: "The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript." If this statement is not correct, you must describe the role of any sponsors or funders, and amend the sentence as needed. Additionally, the roles of all authors must be described (For example: Conceived and designed the experiments: AA, BB. Performed the clinical examination: AA, CC. Performed the experiments: DD, FF. Analyzed the data: BB, FF. Wrote the paper: AA, CC, FF, EE).

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 960.00 per page.

References

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Examples

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

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

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

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

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

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