

UNIVERSIDADE DE UBERABA
MESTRADO ACADÊMICO EM ODONTOLOGIA
CAROLINE SOARES SANTOS

**AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL DO
ESMALTE TRATADO COM AGENTES PREVENTIVOS E
SUBMETIDO AO DESAFIO CARIOGÊNICO**

UBERABA-MG

2024

CAROLINE SOARES SANTOS

**AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL DO ESMALTE
TRATADO COM AGENTES PREVENTIVOS E SUBMETIDO AO
DESAFIO CARIOGÊNICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Mestrado Acadêmico da Universidade de Uberaba, como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na Área de concentração em Clínica Odontológica Integrada.

Orientador Prof. Dr. Vinícius Rangel
Geraldo Martins

UBERABA-MG

2024

i

Catálogo elaborado pelo Setor de Referência da Biblioteca Central UNIUBE

- S59a Santos, Caroline Soares.
Avaliação da rugosidade superficial do esmalte tratado com agentes preventivos e submetido ao desafio cariogênico / Caroline Soares Santos. – Uberaba, 2024.
36 f. : il., color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade de Uberaba. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Clínica Odontológica Integrada.
Orientador: Prof. Dr. Vinícius Rangel Geraldo Martins.
1. Cáries dentárias. 2. Lasers em odontologia. 3. Flúor. 4. Aspereza de superfície. I. Martins, Vinícius Rangel Geraldo. II. Universidade de Uberaba. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração em Clínica Odontológica Integrada. III. Título.
- CDD 617.67

CAROLINE SOARES SANTOS

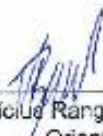
AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL DO ESMALTE TRATADO COM AGENTES PREVENTIVOS E SUBMETIDO AO DESAFIO CARIOGÊNICO

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Mestrado da Universidade de Uberaba.

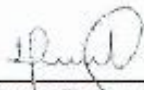
Área de concentração: Clínica Odontológica Integrada

Aprovado (a) em: 31/07/2024

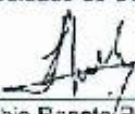
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Vinícius Rangel Geralco Martins
Orientador
Universidade de Uberaba



Prof.ª Dr.ª Denise Tomavoi de Castro
Universidade de Uberaba



Prof. Dr. Fábio Renato Pereira Robles
Universidade Federal Fluminense

Universidade de Uberaba
FABIO RENATO PEREIRA ROBLES
CPF: 04.593.228-00027-0100
WhatsApp: (14) 3424-8460

DEDICATÓRIA

Dedico à Deus por tornar meu sonho em realidade, por me abençoar durante todo esse trajeto, por ter permitido saúde e determinação para conseguir ultrapassar todos os obstáculos encontrados durante o Mestrado em Clínica Odontológica Integrada.

Dedico aos meus pais João e Lúcia (in memoriam) e as minhas irmãs Carla e Camila, que nunca mediram esforços para conquistar a minha formação, que sempre me incentivaram nas horas difíceis, e apesar de todas as dificuldades sempre me fortaleceram com muito carinho e amor, e que hoje com o Mestrado concluído, torcem incansavelmente para que eu consiga alcançar todos os meus objetivos profissionais. Essa conquista é nossa.

Dedico ao meu namorado Gustavo, que me apoiou em todas as fases dessa pesquisa. Sua paciência, compreensão e carinho foram fundamentais para que eu conseguisse manter o equilíbrio emocional e alcançar a conclusão do Mestrado. Minha gratidão

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Uberaba (UNIUBE), representada pelo Reitor Dr. Marcelo Palmério, pela contribuição em minha formação profissional, desde a graduação ao mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior (CAPES), pela concessão do auxílio financeiro sob a forma de PROSUP/TAXA

À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais), e ao PAPE (Programa de Apoio à Pesquisa) da Universidade de Uberaba pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Uberaba, na pessoa do coordenador Prof. Dr. César Penazzo Lepri, pela oportunidade oferecida e pelo excelente trabalho executado.

Ao Prof. Dr. Vinícius Rangel Geraldo Martins, pela paciência e ensinamentos. Jamais esquecerei sua inestimável confiança para conclusão desse trabalho. Minha gratidão e meus sinceros agradecimentos.

A pós-graduanda Ana Paula Lima da Silva da Universidade de Uberaba, pela disponibilidade e grande contribuição na parte dos trabalhos laboratoriais, enriquecendo o meu processo de aprendizado. Minha gratidão, e muito sucesso.

A graduanda Maria Fernanda Oliveira da Universidade de Uberaba, pela contribuição com o desenvolvimento dessa pesquisa, te desejo muito sucesso.

À Flávia Michele da Silva, sempre disposta a ajudar, muito obrigada.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

A cárie dentária é uma doença dinâmica, multifatorial, mediada por biofilme, que resulta na desmineralização dos tecidos duros dentais. O primeiro sinal clínico da doença corresponde à formação de uma mancha branca do esmalte dental. Nessa fase, pode-se indicar tratamentos minimamente invasivos para o controle da lesão. Contudo, resta saber se esses métodos não aumentam a rugosidade do tecido desmineralizado, o que poderia levar a um maior acúmulo de biofilme sobre o esmalte dental. O objetivo da pesquisa foi avaliar a rugosidade superficial de lesões de mancha branca tratadas com diferentes métodos de prevenção de cárie. Foram obtidos 50 fragmentos de incisivos bovinos. Realizou-se análise da rugosidade superficial a com a utilização de um microscópio confocal de varredura a laser. Após a leitura da rugosidade superficial do esmalte, os fragmentos foram submetidos à ciclagem de pH para a simular a formação de lesões de mancha branca. Após nova leitura da rugosidade, diferentes tratamentos foram aplicados: gel fluoretado (G1), verniz fluoretado (G2), escovação dental com dentifrício à base de Fosfopeptídeo de Caseína-Fosfato de Cálcio Amorfo (CPP-ACP) (G3), resina infiltrante ICON (G4) e laser Er,Cr:YSGG (G5). Após os tratamentos, a rugosidade superficial foi novamente avaliada. As amostras foram submetidas a um segundo desafio cariogênico e, posteriormente, foi realizada a leitura final da rugosidade superficial. Os dados foram submetidos ao teste ANOVA a 2 critérios, seguido pelo pós teste de Tukey ($\alpha = 5\%$). Os resultados mostraram que a escovação com dentifrício CPP-ACP e a irradiação com laser Er,Cr:YSGG aumentaram a rugosidade superficial ($p < 0,05$). das lesões de mancha branca do esmalte dental, o que não ocorreu nas amostras tratadas com os compostos fluoretados ou com o infiltrante resinoso ($p > 0,05$). Contudo, o desafio cariogênico realizado após os tratamentos preventivos, aumentou significativamente a rugosidade superficial apenas das lesões tratadas com o infiltrante resinoso. Concluiu-se que O desafio ácido aumentou a rugosidade do esmalte sadio, contudo, a escovação com dentifrício CPP-ACP e a irradiação com laser Er,Cr:YSGG aumentaram a rugosidade superficial das lesões de mancha branca do esmalte dental. Já a rugosidade observada após o segundo desafio cariogênico foi semelhante àquela

obtida nas amostras tratadas com o gel ou verniz fluoretado, com o dentifrício à base de CPP-ACP ou o laser Er,Cr:YSGG, e por fim, apesar da técnica do infiltrante resinoso deixar a superfície da lesão de mancha branca mais lisa, a integridade do compósito foi alterada pelo desafio cariogênico.

Palavras chave: Cárie dental, CPP-ACP, Flúor, Infiltrante Resinoso, Laser, Rugosidade Superficial

ABSTRACT

Dental caries is a dynamic, multifactorial, biofilm-mediated disease that results in the demineralization of dental hard tissues. The first clinical sign of the disease is the formation of a white spot on the dental enamel. At this stage, minimally invasive treatments may be indicated to control the lesion. However, it remains to be seen whether these methods do not increase the roughness of the demineralized tissue, which could lead to greater accumulation of biofilm on the dental enamel. The aim of this research was to evaluate the surface roughness of white spot lesions treated with different caries prevention methods. Fifty fragments of bovine incisors were obtained. Surface roughness analysis was performed using a laser scanning confocal microscope. After reading the surface roughness of the enamel, the fragments were subjected to pH cycling to simulate the formation of white spot lesions. After a new roughness reading, different treatments were applied: fluoride gel (G1), fluoride varnish (G2), tooth brushing with fluoride-based toothpaste (G3), and fluoride-based toothpaste (G4). Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) (G3), ICON infiltrating resin (G4) and Er,Cr:YSGG laser (G5). After the treatments, the surface roughness was evaluated again. The samples were subjected to a second cariogenic challenge and, subsequently, the final reading of the surface roughness was performed. The data were submitted to the 2-way ANOVA test, followed by the Tukey post-test ($\alpha = 5\%$). The results showed that brushing with CPP-ACP dentifrice and Er,Cr:YSGG laser irradiation increased the surface roughness ($p < 0.05$) of white spot lesions on dental enamel, which did not occur in samples treated with fluoride compounds or with the resin infiltrant ($p > 0.05$). However, the cariogenic challenge performed after preventive treatments significantly increased the surface roughness only of the lesions treated with the resin infiltrant. It was concluded that the acid challenge increased the roughness of healthy enamel, however, brushing with CPP-ACP dentifrice and Er,Cr:YSGG laser irradiation increased the surface roughness of white spot lesions of dental enamel. The roughness observed after the second cariogenic challenge was similar to that observed after the first cariogenic challenge.

obtained in samples treated with fluoride gel or varnish, with CPP-ACP-based dentifrice or Er,Cr:YSGG laser, and finally, despite the resin infiltration technique leaving the surface of the white spot lesion smoother, the integrity of the composite was altered by the cariogenic challenge.

Keywords:Dental caries, CPP-ACP, Fluoride, Resinous Infiltrant, Laser, Surface Roughness

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVO	15
3. METODOLOGIA	16
3.1 Obtenção Dos Fragmentos De Esmalte Dental	16
3.2 Medida da Rugosidade Superficial	17
3.3 Indução De Mancha Branca No Esmalte Dental	17
3.4 Aplicação do Gel Fluoretado	18
3.5 Aplicação do Verniz Fluoretado	18
3.6 Escovação com dentifrício à base de CPP-ACP	19
3.7 Aplicação do Infiltrante Resinoso	19
3.8 Aplicação do laser Er,Cr:YSGG	20
3.9 Análise da Rugosidade superficial	20
3.10 Segunda ciclagem de pH	20
3.11 Análise estatística	20
4. RESULTADOS	22
5. DISCUSSÃO	27
6. CONCLUSÃO	31
7. REFERÊNCIAS	32
8. ANEXOS	36

1. INTRODUÇÃO

A cárie dental é uma doença infecciosa que afeta grande parte da população, promovendo a destruição localizada dos tecidos dentários. Sua origem é multifatorial e depende da correlação entre fatores determinantes e modificadores. Os fatores determinantes atuam diretamente no processo de desmineralização e remineralização que ocorre constantemente no esmalte dental. São considerados fatores primários o biofilme dental, a microbiota cariogênica, o hospedeiro (dieta cariogênica) e o tempo, sendo o principal microrganismo envolvido nesse processo o *Streptococcus mutans*, que é uma bactéria Gram-positiva que desempenha um papel central no desenvolvimento de cáries devido à sua capacidade acidogênica e acidúrica (HARRIS, R. et al., 2004). A saliva representa um fator determinante secundário, com o pH e a presença dos íons atuando diretamente nos processos de obtenção e perda mineral nos dentes (MALIN et al., 2024). Já os fatores modificadores influenciam indiretamente a probabilidade do indivíduo desenvolver lesões cáries. Dentre esses fatores, destacam-se a renda, o conhecimento sobre higiene oral, o comportamento, a escolaridade, as atitudes e a classe social (TINANOFF et al., 2019).

A cárie dentária é a doença crônica mais comum da infância. A literatura relata que 59% dos indivíduos de 12 a 19 anos apresentam pelo menos uma lesão de cárie nos dentes permanentes (NATH et al., 2023). A cárie representa uma "epidemia silenciosa" que afeta desproporcionalmente as populações pobres, jovens e crianças que vivem abaixo de 100% do nível de pobreza (FRENCKEN et al., 2020; NATH et al., 2023). Nos Estados Unidos, 25% das crianças de 2 a 5 anos de idade de grupos socioeconômicos baixos apresentam 80% dos dentes comprometidos pela doença. Entre crianças de 3 a 5 anos, a cárie dentária não tratada foi significativamente maior para crianças negras e hispânicas versus crianças brancas e hispânicas (19,3% e 19,8% respectivamente) do que para crianças brancas não hispânicas (11,3%). Essa disparidade persistiu entre crianças de 6 a 9 anos e de 13 a 15 anos de idade (BASHIR, 2022).

As lesões iniciais de cárie são caracterizadas pela presença de áreas opacas no esmalte, criadas pela perda mineral da camada superficial e subsuperficial do tecido duro, ou seja, sem cavitação clinicamente visível (THIRUMOORTHY & GOPAL, 2024). O diagnóstico precoce permite a aplicação da terapia de remineralização do esmalte dental, que previne ou até mesmo interrompe a progressão da lesão

incipiente com a menor perda tecidual possível. Sendo assim, diferentes abordagens minimamente invasivas podem ser adotadas, como, por exemplo, a educação e motivação do paciente para uma correta higiene oral, o controle da dieta e a aplicação de produtos à base de flúor no local (TINANOFF et al., 2019).

Os fluoretos, formas iônicas do elemento químico flúor (F^-), são os principais responsáveis pelo declínio da cárie dentária nas comunidades. Além de reduzir a prevalência da cárie, o F^- age diminuindo a velocidade de progressão de novas lesões (CLARK et al., 2020). O efeito preventivo do flúor tem sido investigado extensivamente nos últimos anos. Várias modalidades e métodos de aplicação dos compostos fluoretados foram estudados, cada um com sua própria concentração recomendada, frequência de uso e esquema de dosagem. O uso de flúor por meio de dentifrícios, vernizes, géis e enxaguatórios bucais é comum em programas de prevenção de cárie (PONTIGO-LOYOLA et al., 2024).

A aplicação profissional de flúor é realizada nos consultórios odontológicos e é frequentemente recomendada para indivíduos com alto risco de cárie (CLARK et al., 2020). Essa aplicação pode envolver diferentes produtos à base de fluoretos, como géis fluoretados, vernizes, espumas e pastas, que podem, em alguns casos, ser implementados em escolas ou outras instituições como parte de programas de prevenção de cárie (SOARES et al., 2021). Apesar de a American Dental Association sugerir que crianças com alto risco de cárie deveriam receber verniz fluoretado quatro vezes ao ano, a literatura não é conclusiva sobre esse assunto. Isso ocorre porque, em crianças entre 2 e 8 anos de idade, quando os dentes em formação são frequentemente expostos ao flúor, pode haver o risco de fluorose dentária. A fluorose é o resultado da ingestão crônica de flúor durante o desenvolvimento dental, manifestando-se como mudanças visíveis na opacidade do esmalte devido a alterações no processo de mineralização do dente (SLAYTON et al., 2018; VASISTH et al., 2024). Outro fator que pode ser considerado uma desvantagem é a necessidade da utilização constante de compostos fluoretados para que os níveis de F^- na saliva se mantenham elevados e possam atuar na prevenção ou na progressão das lesões cáries (PONTIGO-LOYOLA et al., 2024). Por esse motivo, dentifrícios sem flúor, infiltrantes resinosos e o laser estão sendo estudados para complementar ou, em alguns casos, substituir a utilização do flúor no processo de higienização bucal.

A aplicação do infiltrante resinoso ICON (DMG, Chemisch-Pharmazeutische Fabrik GmbH, Hamburgo, Alemanha) é um método promissor de tratamento

minimamente invasivo, uma vez que sua baixa viscosidade e seu poder de penetração permitem que ele infiltre no corpo da lesão de esmalte e preencha as porosidades, evitando a difusão de ácidos e sais minerais dissolvidos que levariam a uma maior desmineralização e progressão da lesão (ANDRADE et al., 2020). Além de amenizar a progressão da lesão, o infiltrante resinoso (Icon®) possui um índice de refração muito semelhante ao do esmalte dental saudável (1,46–1,48), o que confere a esse material a capacidade de mascarar o aspecto esbranquiçado que a lesão incipiente apresenta devido aos espaços vazios que produzem diferentes índices de refração do esmalte dental (SANFELICE et al., 2024).

Na última década, uma nova perspectiva de tratamento não invasivo de lesões iniciais de cárie foi adotada. A caseína, uma proteína do leite, demonstrou atividade anticariogênica através da capacidade de estabilizar cálcio e fosfato na superfície dentária, aumentando o gradiente desses íons e, conseqüentemente, promovendo a remineralização. O fosfopeptídeo caseína se liga ao fosfato de cálcio amorfo, constituindo o complexo CPP-ACP. O fosfato de cálcio amorfo é capaz de liberar íons de cálcio e fosfato, mantendo um estado supersaturado e otimizando o processo de remineralização. O complexo CPP-ACP pode ser encontrado na composição de produtos como enxaguantes bucais, dentifrícios, cremes e gomas de mascar (TAO et al., 2018).

Um dos tratamentos alternativos que tem sido bastante discutido na literatura é a utilização do laser de Er,Cr (Laser de Érbio Cromo Dopado com Ítrio, Escândio, Gálio e Granada), com comprimento de onda de emissão de 2,78 μm , em alta intensidade para aumentar a resistência ácida do esmalte dental. Os relatos da literatura têm demonstrado que a irradiação do esmalte dental com lasers de alta intensidade promove uma redução significativa da perda mineral (AL-MALIKY et al., 2020). Diferentes hipóteses têm sido propostas para explicar as alterações do esmalte que resultam no efeito preventivo, todas relacionadas ao aumento de temperatura no tecido irradiado. Quando o esmalte é aquecido até temperaturas na faixa de 100–650°C, ocorre uma diminuição do conteúdo de água, perda parcial de carbonato e formação de pirofosfatos na estrutura do tecido. Entre 650–1000°C, são observados crescimento dos cristais, formação de α -TCP e β -TCP, redução de OH^- e eliminação do carbonato. Entre 1100–1600°C, as fases α -TCP e β -TCP podem ser observadas juntamente com uma maior redução de OH^- . Nas duas faixas mais altas de temperatura, as fases de hidroxiapatita formadas apresentam um produto de

solubilidade maior do que o esmalte natural. Entre 100 e 650°C, fases menos solúveis não são formadas, e a redução de carbonato e formação de pirofosfato são responsáveis por diminuir a solubilidade do esmalte. Assim, essa faixa tem sido descrita como a faixa interessante para as modificações induzidas por laser (LUK et al., 2020). Da mesma maneira, existe a teoria que descreve a influência da decomposição da matriz orgânica na redução da solubilidade. Após o aquecimento do esmalte até temperaturas entre 400 e 500°C, ocorreria uma diminuição da permeabilidade do esmalte e uma redução da solubilidade em relação ao esmalte natural. Como a decomposição das proteínas do esmalte acontece ao redor de 350°C, existe a possibilidade de que os produtos da decomposição da matéria orgânica obstruam os poros do esmalte e impeçam a penetração dos íons ácidos (AL-MALIKY et al., 2020).

Todos esses métodos relatados acima são considerados não invasivos, ou seja, não removem ou alteram minimamente a estrutura do dente. Como mencionado anteriormente, a cárie é causada pelo acúmulo de biofilme sobre a superfície do dente, e isso está diretamente ligado à lisura superficial do tecido duro. Além disso, a rugosidade interfere diretamente nas propriedades estéticas do dente e dos materiais restauradores, como brilho, alteração de cor e manchamento. Por isso, seria interessante saber se os tratamentos não invasivos para lesões de mancha branca do esmalte dental alteram a rugosidade superficial do tecido duro e, por conseguinte, não o deixam mais propenso ao acúmulo de pigmentos ou biofilme cariogênico. A hipótese nula é de que a rugosidade superficial das lesões de mancha branca do esmalte dental não é alterada pelos tratamentos preventivos e que as superfícies tratadas também não são modificadas após um novo desafio cariogênico.

2. OBJETIVO

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar a rugosidade superficial de lesões de mancha branca tratadas com diferentes métodos de prevenção de cárie e o comportamento do esmalte tratado frente a um novo desafio cariogênico.

3. METODOLOGIA

3.1 Obtenção Dos Fragmentos De Esmalte Dental

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Uberaba (CEEA–001/2023). Primeiramente, foram obtidos 50 incisivos bovinos, livres de defeitos no esmalte. Esses dentes foram limpos com escova Robinson, pasta de pedra-pomes e água. Em seguida, foram armazenados em água destilada a 4°C até o momento da utilização. Para a obtenção das 50 amostras de esmalte, as coroas foram separadas das raízes na junção amelo-cementária. Em seguida, as coroas foram seccionadas com disco diamantado montado em máquina de corte (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração, resultando em 1 amostra por coroa (5x5x3 mm). Para a padronização da superfície do esmalte, as amostras foram polidas na politriz com lixas d'água de granulação 600 e 1200 por 30 segundos em cada lixa. Em cada amostra, foi delimitada uma área de 16,0 mm² com esmalte de unha na cor vermelha, na qual foram realizados os tratamentos propostos na presente pesquisa (Tabela 1). As amostras foram mantidas em água destilada a 37°C no intervalo entre os tratamentos.

Tabela 1. Grupos experimentais

Grupo (n=10)	Tratamento	Concentração	Composição
1	Gel fluoretado (Flugel, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil)	2%	2% Fluoreto de Sódio Água purificada Carboximetilcelulose sódica Ácido fosfórico
2	Verniz Fluoretado (Duraphat, Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo-SP)	22.600 ppm F	Água, Carbonato de Cálcio, Sorbitol, Bicarbonato de Arginina, Sílica Hidratada, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Monofluorofosfato de Sódio, Goma de Celulose, Bicarbonato de Sódio, Pirofosfato Tetrassódico, Fosfato Tricálcico, Sacarina

Grupo (n=10)	Tratamento	Concentração	Composição
			Sódica, Álcool Benzílico, Goma Xantana, CI 77891, Limoneno.
3	MI Paste (fosfopeptídeo de caseína – Fosfato de Cálcio Amorfo; MI PASTE, GC America, Alsip-IL, Estados Unidos)	-	Nitrato de potássio, Água pura, Glicerol, RECALDENTE (CPP-ACP), Sorbitol, CMC-Na, Propilenoglicol, Dioxido de Silício, dióxido de titânio, xilitol, ácido fosfórico, aromatizante, salicilato de metila, Sacarina de sódio, p-hidroxibenzoato de etila, p-hidroxibenzoato de propil, butil p-hidroxibenzoato, sarcosinato de sódio-N-lauril
4	Icon (DMG, Chemisch – Pharmazeutische Fabrik GmbH, Hamburgo, Alemanha)	-	Icon-Etch: ácido clorídrico 15% Icon-Dry: 99% etanol Icon-Infiltrant: matriz de resina à base de metacrilatos, iniciadores, aditivos
5	Laser Er,Cr	-	-

3.2 Medida da Rugosidade Superficial

Inicialmente, todas as amostras foram limpas em cuba ultrassônica. Posteriormente, 10 amostras de esmalte dental de cada grupo foram avaliadas quanto à rugosidade superficial, utilizando um microscópio confocal de varredura a laser (MCVL – LEXT OLS400 3D, Olympus, Tokyo, Japão) sob aumento de 10x, de forma que toda a área experimental fosse analisada sempre na mesma posição. Os valores foram anotados e serviram como “baseline” para futuras comparações. Novas medidas de rugosidade superficial foram realizadas após a desmineralização inicial (ciclagem de pH), após os tratamentos e após a desmineralização final das amostras.

3.3 Indução De Mancha Branca No Esmalte Dental

Cada amostra foi fixada com cera pegajosa no fundo de placas de cultivo celular de 24 poços, de forma que a área delimitada ficasse exposta às soluções desmineralizante (DES) e remineralizante (RE). As amostras foram individualmente

imersas em 3,0 mL de solução desmineralizante (2 mmol/L de cálcio, 2 mmol/L de fosfato e 75 mmol/L de acetato, pH 4,6) por 6 horas. Em seguida, as amostras foram removidas, lavadas com água destilada e deionizada por 10 segundos e levemente secas com papel absorvente. Após isso, foram imersas em 3,0 mL de solução remineralizante (1,5 mmol/L de cálcio, 0,9 mmol/L de fosfato, 150 mmol/L de cloreto de potássio e 20 mmol/L de tampão cacodilato, pH 7,0), que possui um grau de saturação de minerais semelhante à saliva, conforme proposto por Ten Cate e Duijsters (1982) e modificado por Santos et al. (2014). Esta solução permaneceu em contato com as amostras por 18 horas. Todas as amostras foram mantidas em estufa a 37°C. As soluções de DES e RE foram substituídas diariamente, por um total de 14 dias. Após cada 5 dias de ciclagem de soluções, as amostras permaneceram imersas em solução RE por 2 dias. Uma nova ciclagem de pH foi realizada após os tratamentos propostos para avaliar a rugosidade superficial das amostras.

3.4 Aplicação do Gel Fluoretado

As amostras do grupo 1 foram tratadas com gel de fluoreto de sódio neutro a 2% (NaF 2%; Flugel, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Uma gota de gel (10g) foi aplicada sobre a superfície das amostras com o auxílio de microaplicadores descartáveis, com um tempo de tratamento de 3 minutos (CRASTECHINI et al., 2019). O gel foi removido com spray ar-água durante 10 segundos, e em seguida, as amostras foram mantidas em água destilada a 37°C durante 7 dias. Esse procedimento foi repetido mais duas vezes, totalizando 3 aplicações de NaF 2%.

3.5 Aplicação do Verniz Fluoretado

As amostras do grupo 2 foram tratadas com verniz fluoretado à base de fluoreto de sódio (22.600 ppm; Duraphat, Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo-SP). A aplicação foi feita com pincel descartável, utilizando 0,50 g do produto durante 60 segundos. O excesso de verniz foi removido com gaze e as amostras foram armazenadas em água destilada a 37°C durante 7 dias. Esse procedimento foi repetido mais duas vezes, totalizando 3 aplicações de verniz.

3.6 Escovação com dentifrício à base de CPP-ACP

No grupo 3, foi realizada a escovação dos fragmentos com um dentifrício contendo o composto CPP-ACP (fosfopeptídeo de caseína – Fosfato de Cálcio Amorfo; MI PASTE, GC America, Alsip-IL, Estados Unidos). A escovação foi feita com uma escova elétrica (Oral-B Pro-Saúde Power, Procter and Gamble), acoplada a um suporte fixo padronizado. A cabeça da escova possui 3 conjuntos de cerdas distintas, posicionadas em ângulos e alturas diferentes. Durante a escovação, as cerdas macias da escova entraram em contato com a superfície das amostras durante 210 segundos, com uma força de 1,96 N, em temperatura ambiente. Considerando que um indivíduo escova cada dente 3 vezes ao dia, por 5 segundos em cada face do dente, esse protocolo simulou um período total de escovação dental de 14 dias (Sharma et al., 2013; Hegde et al., 2013). Uma solução (slurry) foi obtida pela mistura do dentifrício e água destilada na proporção de 1:2 em peso (200 mL de água destilada e 100 g do dentifrício – Especificação ISO #145669-1). Durante a escovação, foi injetado 1,0 mL do slurry lateralmente à amostra, entre o material restaurador e a escova dental, a cada 30 segundos. Ao final, o excesso de dentifrício foi removido com água corrente e as amostras foram limpas em ultrassom com água destilada durante 3 minutos. Em seguida, as amostras foram mantidas a 37°C até as leituras de rugosidade superficial.

3.7 Aplicação do Infiltrante Resinoso

A aplicação do infiltrante resinoso Icon (DMG, Chemisch - Pharmazeutische Fabrik GmbH, Hamburgo, Alemanha) foi realizada nas amostras de acordo com as recomendações do fabricante. Primeiramente, foi feita a profilaxia do dente, seguida pelo condicionamento da lesão de mancha branca com o Icon-Etch (ácido clorídrico a 15%) durante 2 minutos. Após a remoção do ácido com jatos de água e a secagem da superfície com jatos de ar, foi realizada a aplicação do Icon-Dry (etanol a 99%), que foi deixado em contato com a superfície por 30 segundos. Em seguida, a superfície foi seca com jatos de ar e, posteriormente, foi aplicado o Icon-Infiltrant. A aplicação foi feita com uma ponta de aplicação adequada (especificar tipo de ponta, se conhecido), e o produto foi deixado agir sobre a superfície desmineralizada por um período de 3 minutos. Após a remoção dos excessos, a fotoativação da resina infiltrante foi realizada por, pelo menos, 40 segundos (1200 mW/cm², Raddi-Cal, SDI Limited, Victoria, Australia). Após a nova aplicação e fotoativação do produto, o polimento da superfície foi realizado com pontas de borracha abrasivas (Kit Ponta de

Polimento Abrasiva de Silicone Optimize - Septodont - TDV – DLA), seguido por uma sequência de lixas e disco de feltro embebidos com pasta diamantada. Em seguida, as amostras foram colocadas em água destilada e mantidas a 37°C até as análises da rugosidade superficial.

3.8 Aplicação do laser Er,Cr:YSGG

As amostras foram irradiadas com um equipamento emissor de laser Er,Cr, com comprimento de onda de emissão de 2,78 μm (Waterlase™, Biolase™ Technology Inc., San Clemente, CA, EUA), com densidade de energia de 8,92 J/cm², potência de 0,5 W e taxa de repetição de 20 Hz (Santos et al., 2014). De acordo com o fabricante, o foco ideal para a irradiação é de 1,0 mm (modo não contato). Para padronizar a distância de irradiação, foi utilizado um dispositivo que acopla a caneta do laser a uma distância pré-estabelecida a partir da superfície do esmalte dental. A irradiação foi realizada por 30 segundos, sem refrigeração e perpendicularmente à superfície do esmalte, movimentando a fibra de safira nas direções horizontal e vertical, de forma que toda a área pré-estabelecida de 16 mm² recebesse a irradiação. Após a irradiação, as amostras foram colocadas em água destilada e mantidas a 37°C.

3.9 Análise da Rugosidade superficial

Após os tratamentos, foi realizada uma nova análise da rugosidade superficial, utilizando o mesmo método descrito anteriormente.

3.10 Segunda ciclagem de pH

As amostras foram mantidas em água destilada até a segunda ciclagem de pH, recebendo o mesmo tratamento descrito na seção "Indução de Mancha Branca no Esmalte Dental". Em seguida, a rugosidade superficial dos fragmentos foi novamente avaliada.

3.11 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o software Bioestat 5.3 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé-AM, Brasil). Os dados foram analisados quanto à distribuição e homogeneidade pelo teste de D'Agostino. Como foi constatada a distribuição normal dos dados, foi realizado o teste de Análise de

Variância (ANOVA) de medidas repetidas a dois critérios, seguido pelo pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5% em todos os casos.

4. RESULTADOS

A Tabela 2 mostra as médias dos valores de rugosidade superficial (S_a ; μm) obtidas em todos os grupos experimentais nos momentos inicial (baseline; esmalte sadio), após o primeiro desafio cariogênico (formação da mancha branca), após cada tratamento e, finalmente, após o segundo desafio cariogênico. A análise dessa tabela permite observar que não houve diferenças estatisticamente significativas no valor inicial da rugosidade superficial (S_a) do esmalte dental, indicando a correta padronização das amostras ($p > 0,05$). Da mesma maneira, a ciclagem de pH aumentou a rugosidade superficial do esmalte dental, e esses valores foram semelhantes em todos os grupos ($p > 0,05$). O tratamento das amostras com os compostos fluoretados, tanto o gel ($3,45 \pm 0,37$) quanto o verniz ($3,51 \pm 0,28$), não alterou a S_a da mancha branca. Da mesma forma, o segundo desafio cariogênico não alterou os valores de rugosidade superficial dos dois grupos ($p > 0,05$).

A escovação com o composto CPP-ACP aumentou a rugosidade superficial da mancha branca ($3,90 \pm 0,34$), provavelmente devido à ação das cerdas da escova elétrica sobre a lesão. Esses valores foram semelhantes aos observados após o segundo desafio cariogênico ($3,97 \pm 0,31$). Por outro lado, o infiltrante resinoso reduziu a rugosidade da lesão de mancha branca, com valores ($3,08 \pm 0,34$) semelhantes aos encontrados na baseline ($3,03 \pm 0,36$). Contudo, a rugosidade aumentou nesse grupo após o segundo desafio cariogênico ($3,49 \pm 0,31$), aproximando-se dos valores observados após a formação da mancha branca ($3,52 \pm 0,40$).

Semelhante ao grupo 3, o tratamento com o laser Er,Cr aumentou a rugosidade superficial das lesões de mancha branca do esmalte dental ($3,72 \pm 0,16$; $p < 0,05$). No entanto, a rugosidade obtida após o segundo desafio cariogênico ($3,85 \pm 0,20$) foi semelhante àquela observada após o tratamento ($p > 0,05$).

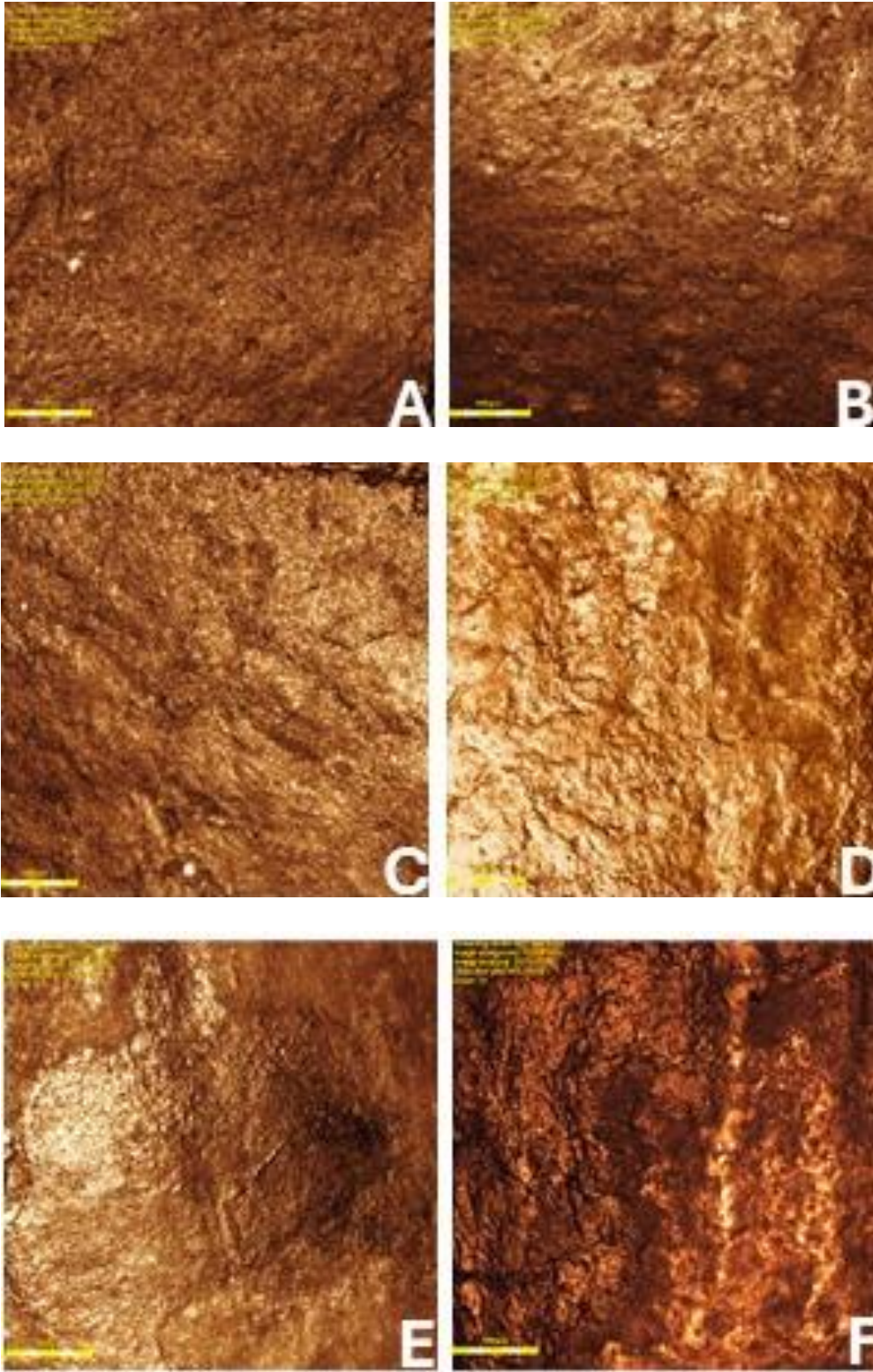
A comparação entre os tratamentos das lesões de mancha branca revelou que os valores de rugosidade superficial (S_a) encontrados nos grupos 1 (gel fluoretado) e 2 (verniz fluoretado) foram menores do que aqueles encontrados nos grupos 3 (CPP-ACP) e 5 (laser Er,Cr), mas foram superiores ao valor encontrado no grupo 4 (Icon).

O tratamento com o infiltrante resinoso foi o que apresentou a menor rugosidade superficial ($p < 0,05$).

A análise dos dados após o segundo desafio cariogênico mostrou que a rugosidade superficial foi menor no gel fluoretado (grupo 1), no verniz fluoretado (grupo 2) e na resina Icon (grupo 4) quando comparados ao MI Paste (CPP-ACP) (grupo 3) e ao laser Er,Cr (grupo 5) ($p < 0,05$).

A Figura 1 ilustra imagens representativas da rugosidade observada na superfície das amostras. É possível observar uma superfície mais regular no esmalte previamente à formação da mancha branca. As imagens dos grupos tratados com os compostos fluoretados (Figuras 1C, 1D, 1E e 1F) mostram poucas alterações na rugosidade superficial, apresentando características semelhantes às aquelas observadas na Figura 1B. As imagens 1G e 1H revelam algumas ranhuras horizontais, provavelmente resultantes do desgaste produzido pela ação das cerdas da escova elétrica. Já na Figura 1I, observa-se uma superfície com poucas irregularidades, provavelmente devido ao polimento realizado após a aplicação do infiltrante resinoso, enquanto na Figura 1J, nota-se a degradação do infiltrante. As imagens obtidas após a irradiação com o laser Er,Cr mostram irregularidades na superfície do esmalte, sugerindo derretimento e ressolidificação do tecido duro dental.

Figura 1. Imagem representativa da rugosidade superficial observada em diferentes estágios. (A) Esmalte sadio (Baseline), (B) Mancha branca do esmalte, e nos grupos experimentais após tratamento e a segunda ciclagem de pH: Gel fluoretado (C e D), Verniz fluoretado (E e F), CPP-ACP (G e H), Icon (I e J), e Laser Er,Cr (K e L). (Aumento original de 10x)



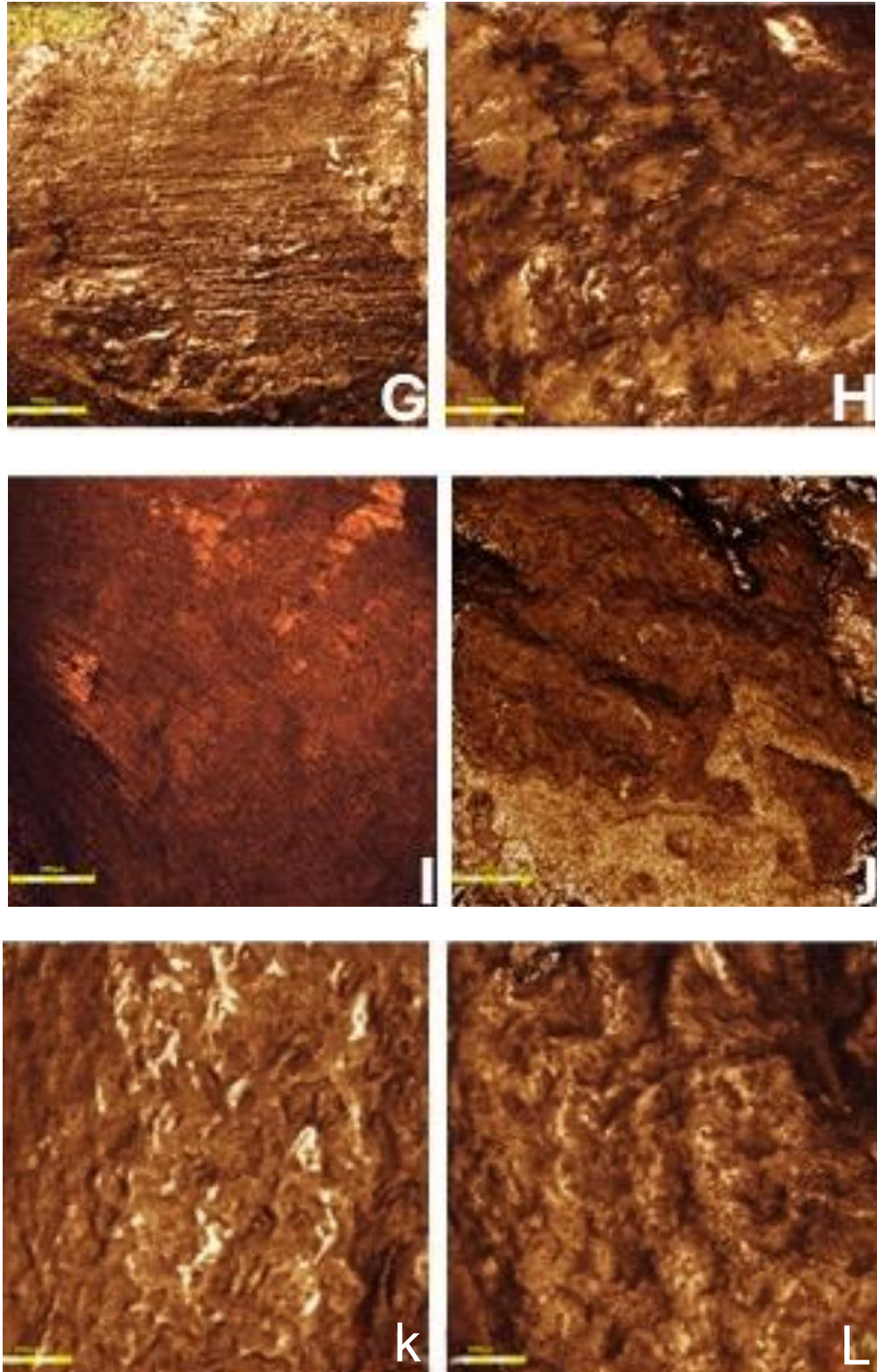


Tabela 2. Médias \pm desvio padrão dos valores de rugosidade superficial ($S_a = \mu\text{m}$) encontrados na *baseline* e nos grupos experimentais após as ciclagens de pH ou dos tratamentos. Letras maiúsculas representam as comparações entre os momentos (dentro de cada linha) e as letras minúsculas comparam os tratamentos (dentro de

cada coluna). Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

	<i>Baseline</i>	1°Desafio Cariogênico	Tratamento	2° desafio Cariogênico
Gel	3,07 ±0,30 Aa	3,39 ±0,34Ba	3,45 ±0,37Ba	3,51 ±0,35Ba
Verniz	3,10 ±0,35Aa	3,47 ±0,30Ba	3,51 ±0,28Ba	3,55 ±0,29Ba
CPP-ACP	3,05 ±0,40Aa	3,45 ±0,36Ba	3,90 ±0,34Cb	3,97 ±0,31Cb
Icon	3,03 ±0,36Aa	3,52 ±0,40Ba	3,08 ±0,34Ac	3,49 ±0,31Ba
Laser	3,06 ±0,19Aa	3,43 ±0,27Ba	3,72 ±0,16Cb	3,85 ±0,20Cb

5. DISCUSSÃO

A presente pesquisa avaliou a rugosidade superficial da mancha branca do esmalte dental tratado com agentes preventivos, assim como avaliou se um novo desafio cariogênico promoveria alterações nas lesões previamente tratadas. Os resultados mostraram que a lesão de mancha branca se apresenta mais rugosa do que o esmalte sadio, e que a rugosidade superficial da lesão tratada com o gel ou verniz fluoretado não é alterada após um novo ciclo de desmineralização. Já os tratamentos com CPP-ACP e o laser Er,Cr alteram a rugosidade da mancha branca, mas essas superfícies tratadas também não são alteradas após o segundo desafio cariogênico. Por outro lado, o tratamento com o infiltrante resinoso deixa a superfície da lesão mais lisa, porém, o segundo desafio cariogênico aumenta a rugosidade da lesão tratada com o Icon. Assim, a hipótese nula testada, onde a rugosidade superficial das lesões de mancha branca do esmalte dental não seria alterada pelos tratamentos preventivos e que as superfícies tratadas também não seriam modificadas após um novo desafio cariogênico, foi rejeitada.

A cavidade oral representa um ecossistema dinâmico e complexo, favorável ao crescimento de diversas comunidades de micro-organismos, que dão origem ao biofilme dental. Este, por sua vez, está associado ao desenvolvimento de cárie e periodontite. Sabe-se que o padrão da colonização microbiana inicial depende da estrutura e das características superficiais do dente (HAMZA et al., 2024). Assim, é importante saber se os tratamentos realizados no esmalte dental alteram a rugosidade do tecido duro a ponto de propiciar uma condição favorável ao acúmulo de biofilme. No presente trabalho, a rugosidade foi avaliada por meio de um microscópio confocal de varredura a laser, que permite realizar a análise longitudinal de uma amostra sem alterar sua superfície (CURY et al., 2018).

Este estudo mostrou que ocorre um aumento da rugosidade superficial do esmalte acometido pela mancha branca. De acordo com a literatura, isso ocorre porque a desmineralização resulta na dissolução dos cristais de esmalte da superfície, consequentemente tornando-o mais poroso. O presente estudo testou diferentes tratamentos preventivos que, por sua vez, apresentam diferentes formas de aplicação no tecido dental. A aplicação tópica de flúor representa o método preventivo mais utilizado no consultório odontológico, já que é considerado um procedimento simples,

não invasivo e de baixo custo. Nos grupos 1 e 2, foram aplicados os compostos fluoretados na forma de gel e de verniz, respectivamente. Clinicamente, tanto o gel quanto o verniz são aplicados suavemente na superfície do esmalte, onde o gel é aplicado com moldeiras e o verniz com um pincel descartável (CLARK et al., 2020). Dessa maneira, é de se esperar que esses tratamentos não alterem a rugosidade do dente ou da mancha branca após sua aplicação, o que ficou comprovado pelos resultados descritos na Tabela 2 e que concordam com outros achados da literatura (CURY et al., 2018; BALTAÇI et al., 2023). A rugosidade superficial das superfícies tratadas também não foi alterada após a segunda ciclagem de pH, o que sugere que esses tratamentos dos grupos 1 e 2 deixaram a lesão de mancha branca mais resistente à ação dos ácidos. No presente trabalho, os compostos fluoretados foram aplicados em 3 sessões, e entre esses momentos, as amostras permaneceram imersas em água destilada. Assim, como tanto o gel quanto o verniz foram removidos com gaze, é possível que parte desses produtos tenha permanecido na superfície da amostra, e isso pode ter contribuído para o efeito remineralizante nas superfícies. O mecanismo de ação do flúor na prevenção da cárie está bem descrito na literatura. Estudos demonstraram que a eficácia do flúor surge da capacidade do íon de formar apatita fluoretada em vez de hidroxiapatita no esmalte durante o processo de remineralização. Supõe-se que esta nova superfície contendo flúor é menos solúvel que a superfície original do esmalte, uma vez que este mineral recém-formado reduz o pH crítico do esmalte para 4,5, enquanto o esmalte sadio começa a desmineralizar quando o pH salivar é 5,5 ou menos. A presença contínua de flúor na saliva durante toda a vida do indivíduo é, portanto, essencial para o efeito preventivo, com a formação de fluoreto de cálcio na fase de remineralização (VASISTH et al., 2024).

O infiltrante resinoso foi desenvolvido com o objetivo de paralisar a lesão de mancha branca e mascarar o aspecto esbranquiçado do esmalte desmineralizado, principalmente em dentes anteriores. Isso é possível graças ao baixo peso molecular do infiltrante que, após o condicionamento ácido e a desidratação da mancha branca, consegue penetrar nas porosidades do tecido duro, tornando essa superfície mais resistente aos ácidos e com coloração semelhante à do esmalte sadio (ANDRADE et al., 2020). Seguindo a técnica sugerida pelo fabricante, o último passo da aplicação do Icon é o polimento, que, na presente pesquisa, foi realizado com pontas de borracha abrasivas, sequência de lixas e disco de feltro embebidos com pasta

diamantada. Provavelmente, isso foi responsável pela maior lisura superficial observada após o tratamento, quando comparado com a rugosidade observada nas lesões de mancha branca, resultando clinicamente em margens mais regulares e menor acúmulo de biofilme. Contudo, quando submetidas a uma segunda ciclagem de pH, as amostras apresentaram valores de rugosidade superficial significativamente maiores em relação ao momento pós-tratamento. De fato, a comparação das imagens 1I e 1J sugere que houve degradação da superfície tratada com o infiltrante, o que está relacionado com o aumento da Sa. A literatura mostra que as falhas dos compósitos devem-se, principalmente, ao comportamento das diferentes matrizes resinosas e ao tipo/porcentagem de carga nas resinas. Nesse sentido, foi demonstrado que materiais à base de TEGDMA possuem baixa resistência aos ácidos, sendo que alimentos e bebidas ácidas causam degradação da matriz resinosa, lixiviação, dissolução das partículas de carga, redução da dureza, aumento da rugosidade superficial e envelhecimento prematuro de restaurações de resina composta (KUMARI et al., 2019; MAZZITELLI et al., 2022). Isso está de acordo com o que foi observado na presente pesquisa, pois, após 14 dias de desafio cariogênico, observou-se aumento da rugosidade superficial da lesão de mancha branca tratada com o infiltrante resinoso.

As lesões de mancha branca irradiadas com o laser Er,Cr apresentaram valores de rugosidade superficial superiores aos do baseline e após a indução de mancha branca, mas foram similares àqueles observados após o segundo desafio cariogênico. Como citado anteriormente, o comprimento de onda desse laser possui forte interação com a água e com a hidroxiapatita, dois dos principais componentes do esmalte dental. Como a mancha branca deixa o esmalte mais poroso, e esses poros estão preenchidos com água, é possível que tenha havido pequenas áreas de ablação sobre o tecido irradiado, o que explicaria o aumento da Sa nessas amostras (SANTOS et al., 2014). Ressalta-se que, previamente à irradiação, as amostras foram secas com jatos de ar. Porém, mesmo que a superfície do esmalte estivesse seca, é possível que existisse água dentro dos poros do esmalte, o que aumentaria a possibilidade de ablação do tecido duro. Isso ocorreu mesmo com a utilização de parâmetros considerados seguros e efetivos para o aumento da resistência ácida do esmalte (ARANTES et al., 2019). Contudo, mesmo com essa alteração promovida após o tratamento, é possível que o laser tenha aumentado a resistência ácida da lesão de

mancha branca, pois, de acordo com a Tabela 2, os resultados da segunda ciclagem de pH foram semelhantes aos dados do pós-tratamento.

De acordo com o que foi apresentado na presente pesquisa, observou-se que os métodos preventivos que envolvem a fricção ou a irradiação do tecido aumentaram a rugosidade superficial da lesão de mancha branca. Contudo, resta saber se esse aumento da rugosidade possui significância clínica, especialmente quando se considera a retenção de biofilme sobre essas superfícies. Desse modo, novos estudos são necessários, utilizando modelos biológicos para indução de cárie e microscopia confocal, para determinar qual aumento da rugosidade leva à maior formação de biofilme cariogênico sobre o esmalte dental.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos aqui, concluiu-se que:

- 1- O desafio ácido aumentou a rugosidade do esmalte sadio.
- 2- A escovação com dentifrício CPP-ACP e a irradiação com laser Er,Cr aumentaram a rugosidade superficial das lesões de mancha branca do esmalte dental.
- 3- A rugosidade observada após o segundo desafio cariogênico foi semelhante àquela obtida nas amostras tratadas com o gel ou verniz fluoretado, com o dentifrício à base de CPP-ACP, ou com o laser Er,Cr.
- 4- Apesar da técnica do infiltrante resinoso deixar a superfície da lesão de mancha branca mais lisa, a rugosidade superficial do compósito foi alterada pelo desafio cariogênico.

7. REFERÊNCIAS

AL-MALIKY, M. A. *et al.* Laser-assisted prevention of enamel caries: a 10-year review of the literature. **Lasers In Medical Science** v. 35, n.1, p. 13-30. 2020.

ANDRADE, R. M. P. M. *et al.* Clinical evaluation of the immediate masking effect of enamel white spot lesions treated with an infiltrant resin. **The International Journal Of Esthetic Dentistry** v. 15, n. 3, p. 306-316, 2020.

ARANTES, B. F. *et al.* Influence of Er,Cr:YSGG laser, associated or not to desensitizing agents, in the prevention of acid erosion in bovine root dentin. **Lasers In Medical Science** v. 34, n. 5, p. 893-900, 2019.

Baltaci, E. *et al.* Effect of three different remineralising agents on prevention against acidic erosion of primary teeth: an in vitro study. **European Archives Of Paediatric Dentistry : Official Journal Of The European Academy Of Paediatric Dentistry** v. 24, n. 5, p. 651-659, 2023.

BASHIR, N. Z. Trends in the prevalence of dental caries in the US pediatric population 2011-2020. **The Journal Of Clinical Pediatric Dentistry** v. 46, n. 5, p. 51-57, 2022.

BÜYÜKGÖZE-DINDAR, M. and TEKBAŞ-ATAY, M. Surface deterioration of resin composites and enamel after toothbrush simulation with new and used toothbrushes. **American Journal Of Dentistry** v. 37, n. 2, p. 59-65, 2024.

CLARK, M. B. *et al.* Fluoride Use in Caries Prevention in the Primary Care Setting. **Pediatrics** v. 146, n. 6, p.2020034637, 2020.

CRASTECHINI, E. *et al.* Effect of Remineralizing Gels on Microhardness, Color and Wear Susceptibility of Bleached Enamel. **Operative Dentistry** v. 44, n.1, p. 76-87, 2019.

CURY, M. S. *et al.* Surface roughness and bacterial adhesion on root dentin treated with diode laser and conventional desensitizing agents. **Lasers In Medical Science** v. 33, n. 2, p. 257-262, 2018.

EICK, S. Biofilm Models for the Evaluation of Dental Treatment. **Monographs In Oral Science** v.29, n. p. 38-52, 2021.

FRENCKEN, J. E *et al.* An assessment of three contemporary dental caries epidemiological instruments: a critical review. **British Dental Journal** v. 228, n. 1, p. 25-31, 2020.

HAMZA, B. *et al.* Initial bacterial adherence and biofilm formation on novel restorative materials used in paediatric dentistry. **Dental Materials : Official Publication Of The Academy Of Dental Materials** v. 40, n. 3, p. 573-579, 2024.

HARRIS, R. *et al.* "Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature." **Community dental health** v. 21, n. 1, p. 71-85, 2004

HEGDE, S. *et al.* A comparison of dentifrices for clinical relief from dentin hypersensitivity using the Jay Sensitivity Sensor Probe. **American Journal Of Dentistry** v. 26 Spec No B p. 29B-36B, 2013.

KUMARI, C M. *et al.* Evaluation of Surface Roughness and Hardness of Newer Nanoposterior Composite Resins after Immersion in Food-Simulating Liquids. **Contemporary Clinical Dentistry** v. 10, n. 2, p. 289-293, 2019.

LUK, K. *et al.* Effects of 10,600 nm Carbon Dioxide Laser on Remineralizing Caries: A Literature Review. **Photobiomodulation, Photomedicine, And Laser Surgery** v. 38, n. 2, p. 59-65, 2020.

MAZZITELLI, C. *et al.* An Insight into Enamel Resin Infiltrants with Experimental Compositions. **Polymers (Basel)** v. 14, n. 24 p.5553, 19 Dec 2022.

MENG, Q. F. *et al.* The effect of combined use of resin infiltration with different bioactive calcium phosphate-based approaches on enamel white spot lesions: An in vitro study. **Journal Of Dentistry** v. 143 p. 104909, 2024.

NATH, S. *et al.* The Global Prevalence and Severity of Dental Caries among Racially Minoritized Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Caries research** v. 57, n. 4, p. 485-508, 2023.

PONTIGO-LOYOLA, A. P. *et al.* Control of Dental Caries in Children and Adolescents Using Fluoride: An Overview of Community-Level Fluoridation Methods. **Pediatric Reports**. 2024; v. 16, n. 2, p. 243-253, Mar 2024.

SANFELICE, EB. *et al.* Short-term Results of the Masking Effect of an Infiltrant Resin on Mild Molar Incisor Hypomineralization Lesions in Anterior Teeth. **Operative Dentistry** v. 49, n. 1, p. 34-42, 2024.

SANTOS, D. M. JR. *et al.* In vitro assessment of the acid resistance of demineralized enamel irradiated with Er, Cr:YSGG and Nd:YAG lasers. **Pediatric Dentistry** v. 36, n. 7, p.137-42, 2014.

SHARMA, N. *et al.* Plaque control evaluation of a stabilized stannous fluoride dentifrice compared to a triclosan dentifrice in a six-week trial. **The Journal Of Clinical Dentistry** v. 24, n. 1, p. 31-6, 2013.

SLAYTON, R. L. *et al.* Evidence-based clinical practice guideline on nonrestorative treatments for carious lesions: A report from the American Dental Association. **Journal Of The American Dental Association (1939)** v. 149, n. 10, p. 837-849.e19, 2018.

SOARES, L. E. S. *et al.* Raman spectroscopy-multivariate analysis related to morphological surface features on nanomaterials applied for dentin coverage. **Spectrochimica Acta. Part A, Molecular And Biomolecular Spectroscopy** v. 228, p. 117818, 2020.

TAO, S. *et al.* Efficacy of fluorides and CPP-ACP vs fluorides monotherapy on early caries lesions: A systematic review and meta-analysis. **PloS One** v. 13, n. 4, p. 0196660. 30 Apr. 2018.

TEN CATE, J. M. and DUIJSTERS, P. P. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. **Caries research** vol. 16, n. 3, p. 201-10, 1982.

THIRUMOORTHY S. N. and GOPAL, S. White spot enamel lesions - is treatment or prevention the answer to this 'no win scenario'? **Evid Based Dent** v. 25 n. 1, p, 51-52, 2024.

TINANOFF, N. *et al.* Early childhood caries epidemiology, aetiology, risk assessment, societal burden, management, education, and policy: Global perspective. **International Journal Of Paediatric Dentistry** vol. 29, n. 3, p. 238-248, 2019.

VASISTH, D. *et al.* Fluoride and its Implications on Oral Health: A Review. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences** vol. 16, Suppl 1 p. S49-S52, 2024.

ZALEH, A. *et al.* The synergistic effect of Nano-propolis and curcumin-based photodynamic therapy on remineralization of white spot lesions: An ex vivo study. **Photodiagnosis And Photodynamic Therapy** v. 38, p.102789, 2022.

8. ANEXOS

Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal.



Ofício CEEA-001/2023

Uberaba, 10 de abril de 2023.

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº 002/2023 relativos ao projeto intitulado “**Avaliação da Eficácia dos Tratamentos Preventivos no Controle da Cárie Dental**” que tem como responsável o **Prof. Vinicius Rangel Geraldo Martins**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA/UNIUBE) regido pela lei nº 11.794/08.

CERTIFICATE

We hereby certify that the protocol nº 002/2023 related to the project entitled “**Evaluation of the Effectiveness of Preventive Treatments in the Control of Dental Caries**” under the supervision of **Prof. Vinicius Rangel Geraldo Martins**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEEA/UNIUBE) according to the law nº 11.794/08.

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Joely Bittar", is written over a light blue horizontal line.

Profa. Joely Ferreira Figueiredo Bittar
Coordenadora do CEEA-UNIUBE