

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

JÚLIA TONIOLO

EFETIVIDADE DA ASSOCIAÇÃO DE PRODUTOS FLUORETADOS
CONTENDO TMP NA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE DENTÁRIO:
ANÁLISE POR MICROESPECTROSCOPIA RAMAN

Porto Alegre

2018

JÚLIA TONIOLO

EFETIVIDADE DA ASSOCIAÇÃO DE PRODUTOS FLUORETADOS
CONTENDO TMP NA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE DENTÁRIO:
ANÁLISE POR MICROESPECTROSCOPIA RAMAN

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Odontologia da Universidade
Federal do Rio Grande do Sul, como
requisito parcial para obtenção do título
de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Jonas de Almeida
Rodrigues

Porto Alegre

2018

CIP - Catalogação na Publicação

Toniolo, Júlia
EFETIVIDADE DA ASSOCIAÇÃO DE PRODUTOS FLUORETADOS
CONTENDO TMP NA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE
DENTÁRIO: ANÁLISE POR MICROESPECTROSCOPIA RAMAN /
Júlia Toniolo. -- 2018.
38 f.
Orientador: Jonas de Almeida Rodrigues.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre,
BR-RS, 2018.

1. Cárie Dentária. I. Rodrigues, Jonas de
Almeida, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Valesca e Vilson, por me ensinarem o valor do trabalho duro, do estudo e do esforço desmedido e por me proporcionarem as condições necessárias para seguir meus sonhos. Ainda à eles e ao resto da minha família, por serem meus maiores fãs.

Aos(as) amigos(as) que conheci durante a graduação por tornarem meus dias mais leves e esta jornada mais alegre. À minha querida dupla de todas as cadeiras Maitê por aprender junto comigo, e me ensinar também, tantas lições importantes durante nossos atendimentos em conjunto e por ser minha companheira de todas as horas.

Aos(as) amigos(as) de fora da faculdade pela compreensão quando tive que dizer não para os convites para realizar minhas atividades acadêmicas; por me perguntarem dúvidas de odontologia e fazerem eu me sentir a melhor dentista, mesmo sem estar formada.

Ao professor Jonas de Almeida Rodrigues por me acolher em sua equipe, por acreditar e investir em mim e por todo conhecimento que teve a generosidade de me passar. Por me presentear com a oportunidade de realizar minha pós-graduação nesta instituição de tanto valor.

Às alunas de doutorado Caroline Simão Sarti, Cláudia Britto Azevedo e Nicole Marchioro dos Santos e à mestre em odontopediatria Daiana Back Gouvêa por fazerem eu me sentir parte da equipe, por me incluírem em seus projetos de pesquisa, por me confiarem seus pacientes e seu tempo para que eu pudesse me aperfeiçoar em pesquisa e no atendimento de crianças e jovens; pelas contribuições que fizeram a este trabalho.

À professora Patrícia Maria Poli Kopper por me orientar na monitoria de endodontia por todos esses anos, por me ensinar a ensinar e por me proporcionar a oportunidade de me apaixonar pela docência.

Ao Laboratório de Bioquímica e Microbiologia e ao Laboratório de Materiais Dentários e suas equipes, por disponibilizarem seus equipamentos e seu auxílio para que este trabalho se tornasse possível.

Aos pacientes que tive a oportunidade de atender durante minha graduação, meus maiores professores.

Ao CNPq por minhas bolsas.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar in vitro o efeito de diferentes formas de administração de produtos fluoretados contendo TMP (solução para bochecho, dentifrício e verniz) na progressão de lesões iniciais de cárie de dentes permanentes a partir da quantificação dos níveis de fosfato presentes no esmalte. Para tanto, 50 blocos de esmalte de dentes permanentes foram obtidos a partir de dentes permanentes extraídos por indicação terapêutica. Os espécimes foram analisados quanto à microdureza inicial superficial para seleção homogênea dos blocos, e então submetidos aos procedimentos de indução de lesão de cárie artificial. Após esse procedimento, as amostras foram divididas nos seguintes grupos experimentais de tratamento: [1] dentifrício 1100ppmF NaF 3%TMP, [2] dentifrício 1100ppmF NaF + solução 100µgF 0,4% TMP, [3] dentifrício 1100ppmF NaF + aplicação de verniz 5%NaF/5%TMP, [4] dentifrício 1100ppmF (controle positivo) NaF e [5] dentifrício placebo, sem flúor e sem TMP (controle negativo). Durante dez dias, os espécimes foram submetidos a ciclos de pH para simular os processos de desmineralização e remineralização do esmalte dentário e nesse período os grupos receberam os tratamentos designados. Posteriormente a essa etapa do estudo, as amostras tiveram seu conteúdo mineral avaliado a partir da quantificação dos níveis de fosfato presentes no esmalte pela microespectroscopia Raman e procedeu-se a comparação entre os grupos a partir dos gráficos gerados pelos pontos lidos. Foi feita a análise estatística utilizando os testes t e de ANOVA de uma via com um nível de significância de 5%. Apenas o grupo controle negativo apresentou diferença estatisticamente significativa na quantidade de fosfato entre as diferentes áreas das amostras e somente o grupo controle positivo apresentou diferença estatisticamente significativa nos níveis de fosfato quando comparado aos demais. Os grupos experimentais não apresentaram quantidades de fosfato estatisticamente diferentes quanto comparados entre si e com os grupos controle. Com a metodologia empregada, nenhum dos produtos utilizados foi eficaz na remineralização de lesões iniciais em esmalte. Novos estudos utilizando diferentes métodos de análise são necessários para determinar porque o TMP não apresentou o efeito desejado.

Palavras-chave: Cárie dentária. Técnicas in vitro. Análise espectral Raman.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the effect of different administration forms of TMP-containing fluoride products (mouthwash, toothpaste and varnish) on the progression of enamel initial caries lesions in permanent teeth using phosphate levels quantification. Human dental blocks were obtained from extracted permanent teeth. The samples were analyzed by its initial surface microhardness for sample selection and then underwent to artificial caries lesions induction. After these procedures, the samples were divided in the following experimental treatment groups: [1] 1100ppmF NaF 3%TMP toothpaste, [2] 1100ppmF NaF toothpaste + 100µgF 0,4% TMP solution, [3] 1100ppmF NaF toothpaste + 5%NaF/5%TMP varnish application, [4] 1100ppmF NaF toothpaste (positive control) and [5] placebo toothpaste, fluoride and TMP free (negative control). Over a 10-days period, the samples were exposed to pH cycles to simulate tooth enamel processes of demineralization and remineralization and, during this period, all groups received concerned treatments. Mineral phosphate content of the samples was evaluated through Raman microspectroscopy and statistical analysis was performed (t-test and one-way ANOVA). Significance level was set at 5%. Only the negative control group showed a statistically significant difference in the amount of phosphate among sample areas. Positive control group was the only group that presented statistically significant difference of phosphate levels when compared to the other groups. Experimental groups did not present statistically difference on the phosphate levels when compared to control groups. With the present methodology the products weren't efficient in promoting remineralization of initial enamel lesions. New analysis methods should be considered to determine why TMP did not present additional remineralizing effect in this study's sample.

Keywords: Dental caries. In vitro techniques. Spectrum analysis, Raman.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	12
3 ARTIGO CIENTÍFICO	13
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
REFERÊNCIAS	26
APÊNDICES.....	28
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para pacientes adultos	28
APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pacientes menores de idade	31
APÊNDICE C - Termo de Assentimento do Menor de Idade	33
APÊNDICE D - Termo de Doação do Dente Permanente	34
APÊNDICE E - Termo de Doação do Dente Decíduo	35
ANEXOS.....	36
ANEXO A – Termo De Aprovação No Comitê De Ética E Pesquisa.....	36

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a doença cárie tem apresentado uma diminuição na sua prevalência e severidade. (MARTHALER, 2004). Medidas de saúde pública como a fluoretação da água, abordagens preventivas individuais de autocuidado como dentifrícios e bochechos fluoretados e serviços profissionais como selantes e vernizes fluoretados também tiveram seu papel na dramática redução de cárie na maior parte das populações. Este sucesso, no entanto, não ocorreu uniformemente em todas as populações. A literatura global sugere que (1) minorias, (2) indivíduos com baixo status socioeconômico e (3) outras populações vulneráveis como jovens e idosos continuam a batalhar contra disparidades em saúde bucal, tendo maior experiência de doenças orais, incluindo a cárie dentária. (MASCARENHAS, 2016). Diante disso, a suplementação do uso do dentifrício fluoretado associado a outras formas de administração de fluoretos (vernizes, e soluções de bochecho) pode se importante no controle da doença. Com base nisso, alguns estudos têm avaliado a efetividade de dentifrícios com alterações na composição, como a redução do pH ou a suplementação com cálcio (Ca) e/ou fosfato (P). (CURY, NEGRI, 2002; DELBEM, et al., 2007; DELBEM, et al., 2009; HUNTINGTON, et al., 1996)

Estudos têm demonstrado que os benefícios do aporte tópico de flúor nos processos de desmineralização e remineralização podem, porém, ser potencializados por meio da incorporação de fosfato a produtos de uso pessoal e profissional. Dentre os fosfatos estudados, o trimetafosfato (TMP) demonstra a maior efetividade contra a atividade de cárie. (MCGAUGHEY, STOWELL, 1977). Segundo os autores, o TMP permite remineralização da hidroxiapatita em extensão suficientemente maior que as demais substâncias para prover um efeito anticárie superior. Segundo trabalho in vitro de Takeshita et al (2009) o dentifrício com 1% TMP e 500µg F/g apresentou maior efeito anticárie que o dentifrício padrão de 1100 µg F/g. A adição de TMP, no entanto, também se apresenta conveniente para o dentifrício 1100 ppmF. De Castro et al (2015) compararam, in vitro, um dentifrício fluoretado convencional de 1100 ppmF a dentifrícios 1100 ppmF suplementados com diferentes dosagens de TMP e observaram que o dentifrício 1100 ppmF + 3% TMP demonstrou os melhores

resultados na redução da desmineralização do esmalte. Quando à adição de TMP em soluções fluoretadas, Takeshita et al (2011) demonstrou que solução fluoretada de NaF contendo 3% TMP foi capaz de provocar menor desmineralização na zona de esmalte saudável em blocos de dentes bovinos desmineralizados submetidos a ciclos de pH. A efetividade de soluções fluoretadas contendo TMP também foi demonstrada pelo estudo de Fravetto et al (2013), que demonstrou que a adição de 0,4% TMP a uma solução de 100 µg F/ml aumentou a quantidade de flúor no esmalte, além de inibir a desmineralização de maneira mais efetiva que soluções de flúor 100 µg F/ml e 225 µg F/ml sem TMP. Além da adição de TMP a dentifrícios e soluções fluoretadas, a literatura também contempla o estudo da combinação de flúor e TMP em vernizes. Os trabalhos de Manarelli et al (2014) e Manarelli et al (2015) demonstram que vernizes fluoretados quando adicionados de 5% TMP apresentam maior recuperação de dureza superficial e menor perda de dureza transversal quando submetidos a ciclos de pH.

Os estudos, no entanto, ainda não suportam a escolha de um modo de aplicação do TMP mais vantajoso em termos de prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte. De acordo com a literatura revisada, os artigos apenas comparam diferentes formulações de dentifrícios entre si, e da mesma maneira soluções e vernizes, mas a pesquisa ainda não lançou o desafio de observar se esses métodos de aporte de flúor e TMP são igualmente efetivos ou se há superioridade de algum deles.

O esmalte humano é o tecido humano mais mineralizado, sendo que é constituído em 96% por minerais, o resto sendo água e matéria orgânica. Seu principal componente é a hidroxiapatita, cuja fórmula básica é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, embora outros íons como fluoretos estão usualmente incorporados. Assim, a quantificação do grupo fosfato na hidroxiapatita é um bom indicador do grau de mineralização do esmalte. Tem sido provado que o fosfato possui ação cariostática, reduz a solubilidade do esmalte e age como um tampão ao neutralizar o pH da saliva, de bactérias, da placa bacteriana e de alimentos. O fosfato interfere com processos enzimáticos na superfície do esmalte para aumentar a resistência do hospedeiro, diminuir a adesão bacteriana e ainda

interfere com a síntese de polissacarídeos extracelulares. Por último, mantém os níveis de cálcio e fósforo na placa bacteriana (INDIRA et al., 2012).

A microespectroscopia Raman permite que seja obtido o espectro vibracional de minerais por meio da análise do espalhamento de luz causado por excitação de um laser monocromático visível ou invisível (INDIRA et al., 2012). O efeito Raman foi confirmado experimentalmente por Chandrasekhara Venkata Raman (1928). O equipamento empregado por microespectroscopia Raman para observação desse efeito utilizou como fonte de excitação a luz do sol, como uma luz policromática visível, um espectroscópio de bolso, e o olho humano como detector. Raman sugeriu a possibilidade de a radiação visível interagir com a matéria de tal modo que houvesse variação na energia do fóton incidente, sendo que essa transferência de energia seria dependente da massa e do tipo de ligações das moléculas (RAMAN e KRISHNAN, 1928). O efeito Raman é definido como espalhamento inelástico de radiação eletromagnética monocromática que interage com as moléculas. Sendo assim, a frequência de radiação espalhada é diferente da radiação incidente (LYNG et al. 2007; MOLCKOVSKY et al., 2003; SINGH, 2002; RAMAN e KRISHNAN, 1928). O espectro Raman de uma determinada molécula consiste em uma série de picos ou faixas, correspondendo cada um ao modo vibracional característico daquela molécula (MOVASAGHI et al., 2007). Portanto, cada molécula apresenta um espectro Raman característico fornecendo a “impressão digital” de uma substância. Sua composição molecular pode ser determinada, possibilitando caracterizar a variação interatômica estrutural das moléculas presentes nos tecidos avaliados (LYNG et al, 2007; ANGEL et al., 2000, MAHADEVAN-JANSEN et al., 1998).

Estudos recentes tem avaliado a composição mineral de tecidos dentários através da microespectroscopia raman. Tem sido observado que com a construção de um banco de dados maior de espectros Raman de tecidos dentais, o desenvolvimento de softwares e o equipamento Raman portátil adequado, esta técnica tem o potencial de ser uma alternativa diagnóstica não invasiva que pode ser usada clinicamente in vivo, posicionando-se o laser Raman sobre o dente e obtendo dados em tempo real,

com sensibilidade e sensibilidade. (GONZALES-SOLÍS, MARTÍNEZ-CANO e MAGANA-LÓPEZ, 2015; MOHANTY et al., 2012). Segundo estudo de Akkus et al. (2016), a microespectroscopia Raman tem sido uma ferramenta poderosa na análise do conteúdo mineral de tecidos, não só em odontologia, mas também em outros tecidos mineralizados como ossos. Neste mesmo estudo, os resultados referentes ao grau de mineralização de dentes obtidos por meio da análise Raman foram similares aos resultados obtidos por meio de microtomografia. Maltz et al. (2015) utilizaram a microespectroscopia Raman para avaliar a mudança nos níveis de fluorapatita e hidroxiapatita em cáries radiculares quando tratadas com dentifrícios e bochechos fluoretados sob diferentes regimes terapêuticos. Assim como Ippolitov et al. (2015) demonstraram as transformações minerais ocorridas em dentes humanos durante o desenvolvimento de cáries de fissura, optando pela microespectroscopia Raman devido à conveniência deste método para analisar fases iniciais da doença cárie.

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar in vitro o efeito de diferentes formas de administração de produtos fluoretados contendo TMP (solução para bochecho, dentifrício e verniz) na progressão de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes a partir da quantificação dos níveis de fosfato presentes na superfície dentária por microespectroscopia Raman.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Efetividade da associação de produtos fluoretados com TMP na desmineralização de esmalte: análise por microespectroscopia Raman

J. Toniolo¹, D. B. Gouvea², N.M. Santos², J.A. Rodrigues³

¹Aluna de Graduação, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil; ²Mestre em Clínica Odontológica/Odontopediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil; ³Professor Adjunto de Odontopediatria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

Resumo: O objetivo do presente estudo foi avaliar in vitro o efeito de diferentes formas de administração de produtos fluoretados contendo TMP (solução para bochecho, dentifrício e verniz) na progressão de lesões iniciais de cárie de dentes permanentes a partir da quantificação dos níveis de fosfato presentes no esmalte. Para tanto, 50 blocos de esmalte de dentes permanentes foram obtidos a partir de dentes permanentes extraídos por indicação terapêutica. Os espécimes foram analisados quanto à microdureza inicial superficial para seleção homogênea dos blocos, e então submetidos aos procedimentos de indução de lesão de cárie artificial. Após esse procedimento, as amostras foram divididas nos seguintes grupos experimentais de tratamento: [1] dentifrício 1100ppmF NaF 3%TMP, [2] dentifrício 1100ppmF NaF + solução 100µgF 0,4% TMP, [3] dentifrício 1100ppmF NaF + aplicação de verniz 5%NaF/5%TMP, [4] dentifrício 1100ppmF (controle positivo) NaF e [5] dentifrício placebo, sem flúor e sem TMP (controle negativo). Durante dez dias, os espécimes foram submetidos a ciclos de pH para simular os processos de desmineralização e remineralização do esmalte dentário e nesse período os grupos receberam os tratamentos designados. Posteriormente a essa etapa do estudo, as amostras tiveram seu conteúdo mineral avaliado a partir da quantificação dos níveis de fosfato presentes no esmalte pela microespectroscopia Raman e procedeu-se a comparação entre os grupos a partir dos gráficos gerados pelos pontos lidos. Foi feita a análise estatística utilizando os testes t e de ANOVA de uma via com um nível de significância de 5%. Apenas o grupo controle negativo apresentou diferença estatisticamente significativa na quantidade de fosfato entre as diferentes áreas das amostras e somente o grupo controle positivo apresentou diferença estatisticamente significativa nos níveis de fosfato quando comparado aos demais. Os grupos experimentais não apresentaram quantidades de fosfato estatisticamente diferentes quanto comparados entre si e com os grupos controle. Com a metodologia empregada, nenhum dos produtos utilizados foi eficaz na remineralização de lesões iniciais em esmalte. Novos estudos utilizando diferentes métodos de análise são necessários para determinar porque o TMP não apresentou o efeito desejado.

Introdução

Nas últimas décadas a doença cárie tem apresentado uma diminuição na sua prevalência e severidade, relacionado ao uso de dentifrícios e bochechos fluoretados, fluoretação da água, vernizes e selantes fluoretados. Este sucesso, entretanto, não foi uniforme, já que algumas populações como minorias, indivíduos de baixo status econômico, jovens e idosos ainda batalham contra a disparidade em saúde bucal, tendo maior experiência de doenças como cárie dentária.^{1,2} Com base nisso, alguns estudos têm avaliado a efetividade de dentifrícios com alterações na composição, como a suplementação com fosfato.^{3,4,5,6}

Dentre os fosfatos estudados, o trimetafosfato (TMP) demonstra a maior efetividade contra a atividade de cárie.⁷ Em estudos anteriores, o dentifrício 1100 ppmF + 3% TMP demonstrou bons resultados na redução da desmineralização de esmalte quando comparado ao dentifrício 1100 ppmF.⁸ A adição de TMP às soluções fluoretadas também se mostrou eficiente na diminuição da desmineralização de esmalte, bem como a combinação de flúor e TMP em vernizes.^{9,10,11} Ainda não há, entretanto, evidências que suportem a escolha de um modo de aplicação de TMP que seja mais vantajoso em termos de prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte.

O esmalte é o tecido humano mais mineralizado; seu componente principal é a hidroxiapatita, cuja fórmula básica é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Logo, a quantificação do grupo fosfato em hidroxiapatita é um bom indicador do grau de mineralização do esmalte.¹²

Estudos recentes têm avaliado a composição mineral de tecidos dentários através da microespectroscopia Raman;^{13,14} esta permite que seja obtido o espectro vibracional de minerais por meio da análise do espalhamento de luz causado por excitação de um laser monocromático visível ou invisível.¹² O espectro Raman de uma determinada molécula consiste em uma série de picos ou faixas correspondendo ao modo vibracional característico da amostra.¹⁵ Assim sendo, cada molécula apresenta um espectro Raman característico e dessa forma é determinada sua composição molecular.^{16,17,18} O objetivo do presente estudo é, portanto, avaliar *in vitro* o efeito de diferentes

formas de administração de produtos fluoretados contendo TMP (solução para bochecho, dentifrício e verniz) na progressão de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes a partir da quantificação por microespectroscopia Raman dos níveis de fosfato presentes na superfície dentária.

Materiais e Métodos

Desenho do Estudo

Amostras de dentes permanentes (aproximadamente 4x4mm), foram preparadas, posteriormente incluídas em blocos de resina Epóxi e polidas em uma politriz elétrica rotativa (APL4, Arotec Indústria e Comércio S/A, Cotia, SP, Brasil), o que possibilitou a seleção por microdureza de superfície inicial das amostras (HMV-2T, Schimadzu, Kyoto, Japão; edentação knoop, 25g por 10s). A microdureza de superfície média foi de 346.6 (\pm 8,6). Foram selecionados 50 blocos, e em seguida os espécimes tiveram 1/3 de sua superfície coberta por esmalte de unhas resistente à ácidos. Lesões artificiais de cárie de subsuperfície foram induzidas, tendo cada amostra ficado imersa em 40ml de substância desmineralizadora (2,2mM de CaCl₂, 2,2mM de KH₂PO₄, 0,5M de ácido acético, tendo o pH ajustado para 4,4 com 1M de KOH) por 96h.¹⁹ Após a obtenção das lesões artificiais de subsuperfície, mais 1/3 da superfície de cada amostra foi coberta, e a mesma foi submetida ao tratamento com o composto fluoretado e TMP. Consistiram em ciclos de desmineralização e remineralização por 10 dias e aplicação do tratamento. Por fim, as amostras foram submetidas à leitura do padrão mineral pela microespectroscopia Raman (SENTERRA, Bruker Optics, Ettlinger, Alemanha).

Grupos Amostrais

Cada grupo amostral preparado para leitura possuía 5 blocos de dentes permanentes, sendo eles:

Grupo 1 - **Dentifrício 1100ppmF Na 3% TMP**: foi aplicado 40ml/bloco de *slurry* (de dentifrício correspondente/água deionizada – proporção de 1/3) sob agitação durante 1 minuto, seguida da lavagem com água deionizada. Esse

protocolo foi realizado 2 vezes ao dia, nos momentos de troca de solução de desmineralização e remineralização utilizadas no ciclo de pH.²⁰

Grupo 2 - **Dentifrício 1100ppmF NaF + solução 100µgF 0,4% TMP**: foi aplicada *slurry* de dentifrício 1100ppmF NaF, conforme protocolo para aplicação de *slurry* descrito para o grupo 1. Após, procedeu-se à aplicação da solução de 100µgF 0,4% TMP(1ml/bloco) por meio de imersão sob agitação em agitador rotativo durante 1 minuto, seguida de lavagem com água deionizada. Esse protocolo foi realizado 2 vezes ao dia, nos momentos de troca de solução de desmineralização e remineralização utilizadas no ciclo de pH.¹⁰

Grupo 3 - **Dentifrício 1100ppmF NaF e aplicação de verniz com 5%NaF e 5%TMP**: foi realizada a aplicação do verniz em momento único previamente à submissão dos espécimes aos ciclos de pH, simulando a aplicação de verniz em consultório. A utilização do dentifrício 1100ppmF NaF seguiu o protocolo descrito para aplicação de *slurry* no Grupo 1, também realizada 2 vezes ao dia, nos momentos de troca de solução de desmineralização e remineralização utilizadas no ciclo de pH.¹¹

Grupo 4 - **Dentifrício 1100ppmF NaF (controle positivo)**: foi realizada aplicação de *slurry* de dentifrício 1100ppmF NaF, conforme protocolo para aplicação de *slurry* indicado para o grupo 1.

Grupo 5 - **Dentifrício placebo, sem flúor e TMP (controle negativo)**: foi realizada aplicação de *slurry* de dentifrício placebo, conforme protocolo para aplicação de *slurry* indicado no grupo 1.

Ciclos de desmineralização e remineralização

Os ciclos de pH duraram 10 dias. Cada ciclo envolveu 3 horas de desmineralização (em substância contendo 2,2mM de CaCl₂, 2,2mM de KH₂PO₄, 0,5M de ácido acético, tendo o pH ajustado para 4,4 com 1M de KOH) duas vezes por dias, intercaladas por 2 horas de remineralização (em substância contendo 1,5mM de CaCl₂, 0,9mM de NaH₂PO₄, 0,15M de KCl, tendo pH 7).¹⁹

Análise do padrão mineral por microespectroscopia Raman

De posse de uma secção da amostra que representasse as três áreas avaliadas (lesão inicial, dente hígido e região tratada), foi retirado com acetona e algodão o esmalte na superfície, expondo as áreas descritas. Leu-se as três áreas ao mesmo tempo, utilizando-se um laser diodo 100mW com 785nm de comprimento de onda e resolução espectral de 3,5 cm^{-1} . Foram realizadas 5 co-adições de 3 segundos cada no espectro de 400 cm^{-1} até 1800 cm^{-1} . O espectro obtido sofreu correção de baseline segundo o método Concave Rubberband Correction. O processamento das informações foi feito no Opus 7.2 (Bker Optics, Ettlingen, Alemanha). Os picos de fosfato (PO_4)⁻³ foram usados para integração (-960 cm^{-1}) sobre a imagem.

Análise estatística

Com base nos valores para cada ponto lido, foi gerado um gráfico para cada grupo amostral. Cada gráfico possui três partes a serem lidas sempre na mesma ordem: tratamento designado (T) > esmalte hígido (H) > lesão subsuperficial de cárie. As quantidades de fosfato obtida pela microespectroscopia Raman foram submetidos à análise estatística pelos testes t (comparação entre as áreas T, H e L) e pelo teste de ANOVA de 1 via (comparação entre os grupos), com um nível de significância de 5%.

Resultados

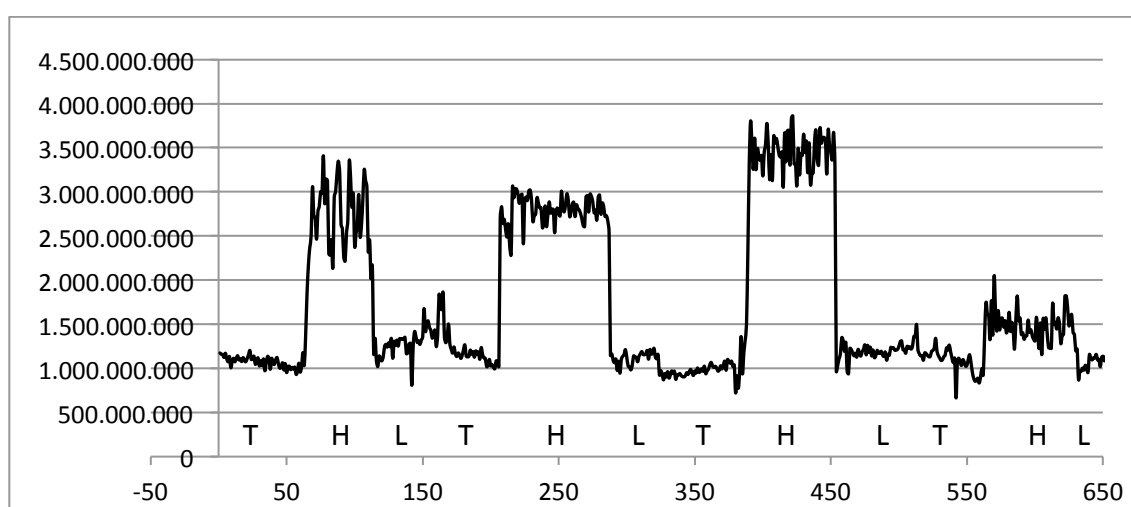


Figura 1. Leituras referente às quatro amostras do grupo 1: dentifrício fluoretado contendo TMP (1100ppmF NaF 3% TMP).

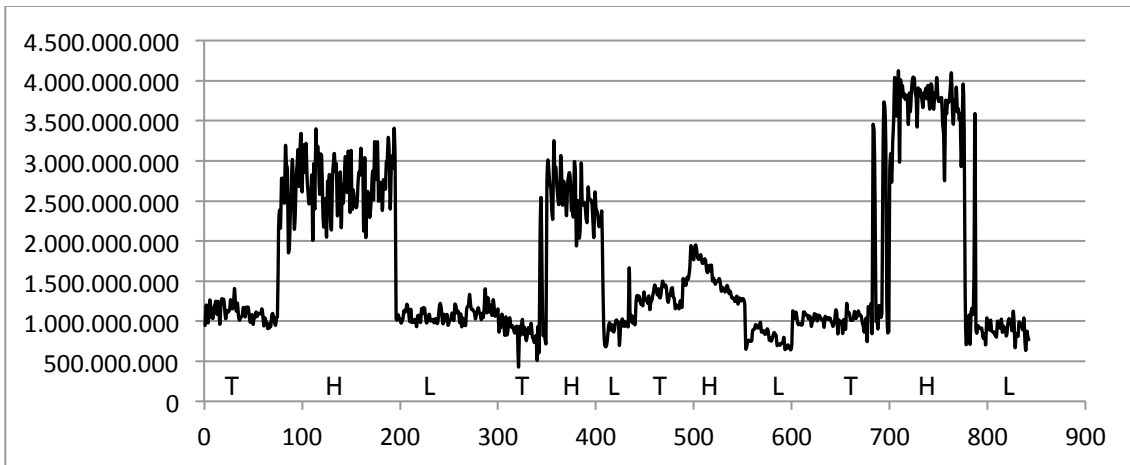


Figura 2. Leituras referente às quatro amostras do grupo 2: dentifrício fluoretado associado a solução de bochecho (dentifrício 1100ppmF NaF + solução 100 μ gF 0,4% TMP).

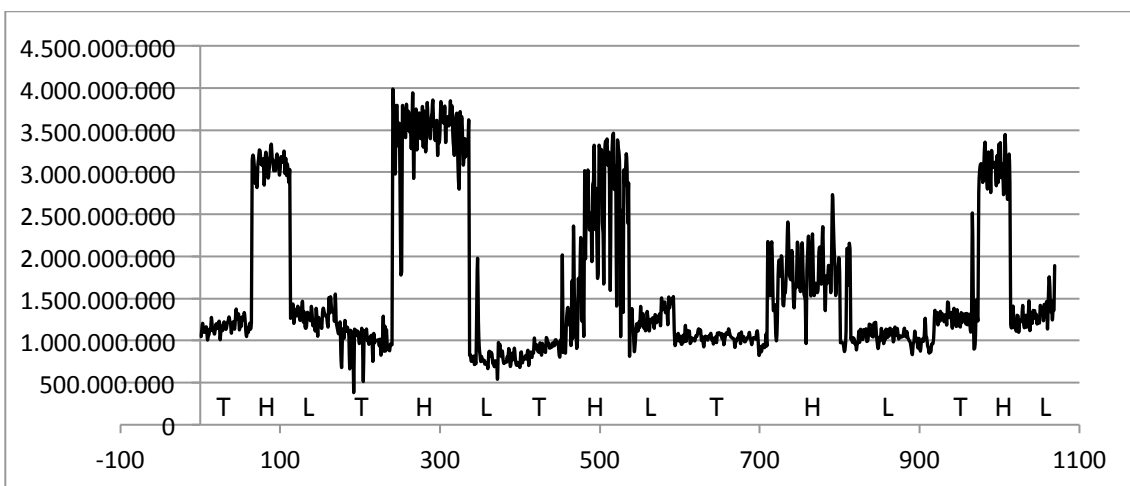


Figura 3. Leituras referente às cinco amostras do grupo 3: dentifrício fluoretado associado ao verniz fluoretado contendo TMP (dentifrício 1100ppmF NaF e aplicação de verniz com 5%NaF e 5%TMP).

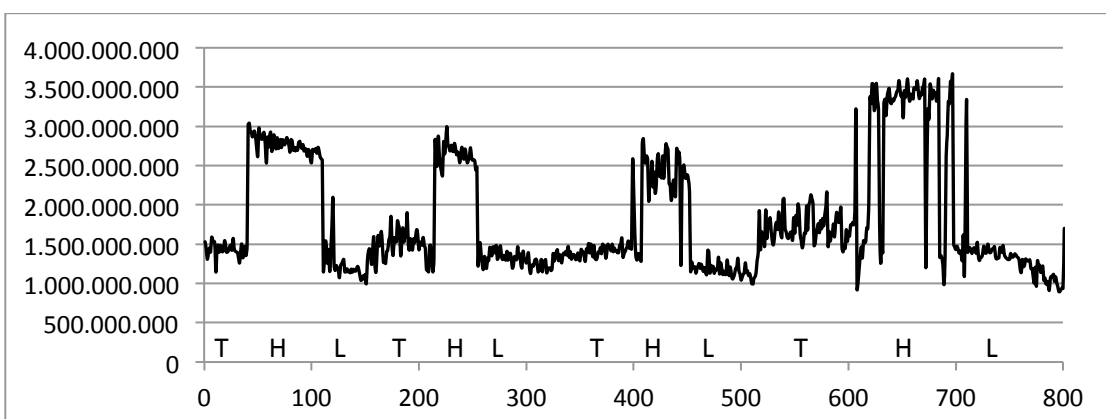


Figura 4. Leituras referente às quatro amostras do grupo 4: controle positivo (dentifrício fluoretado 1100ppmF NaF).

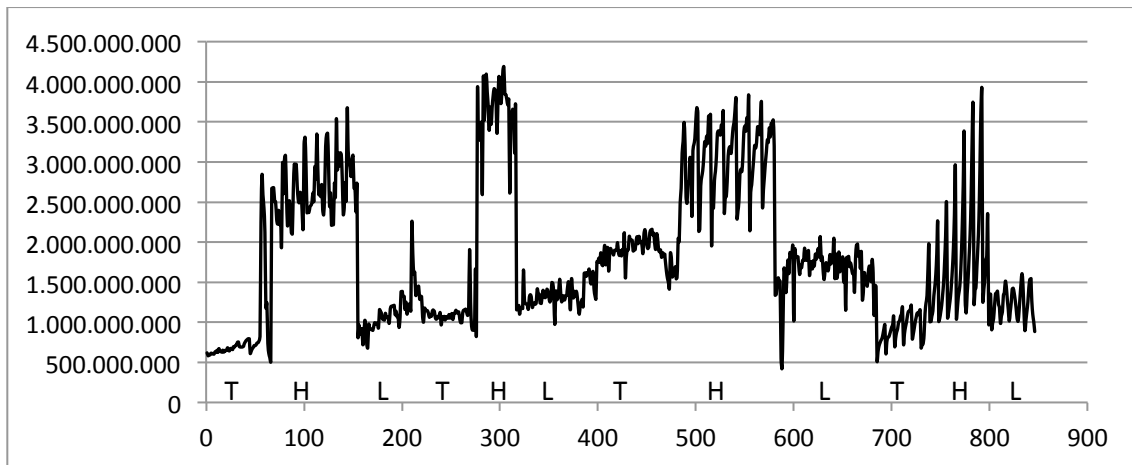


Figura 5. Leituras referente às quatro amostras do grupo 5: controle negativo (dentifrício sem flúor e sem TMP).

Tabela 1. Média da quantidade de fosfato por grupo e por área de cada amostra. As letras minúsculas representam a comparação entre as colunas (áreas da amostra) segundo o teste t. As letras maiúsculas representam a comparação entre linhas (grupos de tratamento) segundo o teste ANOVA de uma via.

Grupo/amostra		Hígido (H)	Lesão (L)	Tratamento (T)
Grupo 1 – Dentifrício (Dentifrício 1100ppmF Na 3% TMP)	1	2620592184	1370600281	918826709
	2	2792717710	1118618037	1132832606
	3	3280311359	1197227253	965971305
	4	1479330235	1059916854	1127563595
	M	2543237872^{a,A}	1186590606^{b,A}	1036298554^{b,A}
Grupo 2 – Solução (Dentifrício 1100ppmF NaF + solução 100µgF 0,4% TMP)	1	2708591878	1082178213	1096783996
	2	2404106608	1009104848	869607540
	3	1652123010	966555028	1299160922
	4	3668850585	955434503	1187794603
	M	2608418020^{a,A}	1003318148^{b,A}	1113336765^{b,A}
Grupo 3 – Verniz (Dentifrício 1100ppmF NaF e aplicação de verniz com 5%NaF e 5%TMP).	1	3091291438	1291934688	1175102174
	2	3475972164	831512762	1022128192
	3	2717385725	1258541170	1006226378
	4	1783119619	1038442413	1026257407
	5	3033602002	1305884077	1283650851
	M	2820274190^{a,A}	1145263022^{b,A}	1102673000^{b,A}
Grupo 4 – C+ (Dentifrício 1100ppmF NaF)	1	2769497269	1236992551	1433710382
	2	2427191765	1302714918	1468488723
	3	2465643480	1169925363	1424779475
	4	3083233875	1344377436	1697852954
	5	2869304022	2354494394	1103020741
	M	2722974082^{a,A}	1481700932^{b,A}	1425570455^{b,B}
Grupo 5 – C – (Dentifrício sem flúor e sem TMP)	1	2557323165	1128119929	680110249
	2	3661121252	1299985153	1102437817
	3	2628563737	1655085575	1628038020
	4	1538333820	1229143684	721685547
	M	2596335494^{a,A}	1328083585^{b,A}	1033067908^{c,A}

Como visto na tabela 1, apenas o grupo controle negativo apresentou diferença estatisticamente significativa na quantidade de fosfato entre as diferentes áreas das amostras. Quando comparados os grupos, somente o grupo controle positivo apresentou diferença estatisticamente significativa nos níveis de fosfato quando comparado aos demais. Os grupos experimentais não apresentaram quantidades de fosfato estatisticamente diferentes quando comparados entre eles e com os grupos controle.

Discussão

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar *in vitro* o efeito de diferentes formas de administração de produtos fluoretados contendo TMP na

progressão de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes a partir da quantificação dos níveis de fosfato presentes na superfície dentária.

Os resultados deste estudo mostraram diminuição das quantidades de fosfato nas áreas da lesão (L) quando comparadas às áreas onde o desafio cariogênico não foi realizado (H), o que era esperado. O modelo de indução de lesão utilizado permitiu a obtenção de lesões artificiais iniciais de cárie com alto valor de R (lesões que mesmo em uma pequena profundidade apresentam altos valores de perda mineral), as quais, têm sido apropriadas para uso em estudos que objetivam avaliar a diferença entre tratamentos, por serem mais responsivas às diferentes soluções remineralizadoras.²¹ Um estudo anterior que utilizou este modelo de indução de lesão observou a diferença no uso de um dentífrico fluoretado e um não fluoretado com análise por microrradiografia transversal (TMR) quando avaliadas lesões de sub-superfície.²²

No entanto, não houve diferença entre as quantidades de fosfato observadas entre as áreas da lesão (L) e as áreas após o tratamento (T) nos diferentes grupos. Esperava-se que as áreas tratadas apresentassem valores significativamente maiores uma vez que estas foram tratadas com produtos fluoretados. Estudo prévio que comparou diferentes dentífricos encontrou vantagem na utilização do dentífrico 1100ppmF + 3% TMP em comparação ao dentífrico convencional 1100ppmF na redução da desmineralização de esmalte. Este estudo, no entanto, utilizou métodos diferentes de mensuração como a medida de microdureza de superfície e a quantificação de fluoretos.⁸ Estes mesmos métodos de análise foram utilizados também nos estudos que encontraram vantagens na suplementação com 5% de TMP em vernizes fluoretados.^{9,10} Quanto ao tratamento com a solução para bochecho, resultados positivos foram encontrados em um estudo que avaliou seus efeitos em um diferente substrato (esmalte bovino) e com método de análise também diferente (microrradiografia transversal).¹¹

Ainda comparando as diferentes áreas das amostras, o grupo 5 (controle negativo) apresentou valores menores de fosfato. Este fato era esperado pois estas amostras não foram tratadas com nenhum tipo de produto fluoretado.

Além disso, quando os diferentes grupos de tratamento foram comparados, os grupo 1, 2 e 3 (grupos teste) apresentaram quantidades menores de fosfato do que o grupo controle, mostrando que a adição de TMP não apresentou efeito adicional na remineralização das amostras de esmalte. Isso pode ser devido ao fato de que a quantificação de fosfato nas amostras não foi eficaz em demonstrar diferenças na mineralização de esmalte para os grupos utilizados. Talvez outros métodos de análise, já utilizados em alguns trabalhos que avaliaram mineralização como a microrradiografia transversal, a microdureza de superfície e a quantificação de outros componentes do esmalte pudessem avaliar melhor o grau de mineralização do esmalte nos diferentes estágios que aqui foram avaliados.^{8,9,10,11} Um estudo que comparou, com o uso da microespectroscopia Raman, o conteúdo mineral de dentes de diferentes espécies preconizou a não leitura da interface entre diferentes áreas, o que foi feito neste estudo, e a quantificação de outros componentes da hidroxiapatita (como o cálcio e o grupo hidroxila) além da leitura do fosfato, o que não foi feito neste estudo, como forma de dar mais veracidade à análise final.²³ Esta hipótese ganha força se levarmos em consideração estudos anteriores que sugerem que o mecanismo de ação do TMP está relacionado com a capacidade dos fosfatos em formar complexos com cátions, tais como Ca^{+2} e CaF^+ .²⁴ Assim sendo, pode ser que o TMP retarde a desmineralização de esmalte por manutenção dos níveis de cálcio e não necessariamente por realizar deposição de fosfato. Isto explicaria os resultados deste trabalho, não necessariamente significando que os produtos utilizados nos grupos experimentais não funcionam, já que não avaliamos as quantidades de cálcio e sim as de fosfato na superfície das amostras. A utilização de outros métodos de análise de conteúdo mineral parece ser de suma importância para determinar o porque de o TMP parecer não ter apresentado, neste trabalho, efeito adicional na remineralização das amostras de esmalte. Assim será possível melhor investigar a eficácia destes produtos e desta metodologia. Diante disso, a microespectroscopia Raman através da quantificação de fosfato pode não ser um método eficaz na mensuração de pequenas perdas minerais do esmalte dentário humano.

Conclusão

Pode-se concluir que, com a metodologia empregada no presente estudo, nenhuma forma de administração de fluoreto contendo TMP foi eficaz na remineralização de lesões iniciais em esmalte quando associadas ao dentífrico convencional. Novos estudos utilizando diferentes métodos de análise são necessários para determinar porque o TMP não apresentou efeito adicional na remineralização das amostras de esmalte no presente trabalho.

Referências:

1. Marthaler, T.M. Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Research*. 2004; 38(3):173-81
2. Mascarenhas, A.K., Who needs more than 1000 ppm? The epidemiology of high-risk populations. *Caries Research*. 2016; 50(1):1-8
3. Negri, H.M., Cury, J.A. Dose-response effect of a dentifrice formulation with low fluoride concentration - an in vitro study. *Pesquisa Odontológica Brasileira*. 2002; 16(4):365-61
4. Delbem, A.C. et al., In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Research*. 2007; 41(4): 263-7
5. Delbem, A.C. et al., In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Research*. 2009; 43(1): 56-0
6. Huntington, E. et al., The effect of sodium trimetaphosphate on caries: a 3-year clinical toothpaste trial. *Caries Research*. 1996; 30(6): 422-18
7. Mcgaughey, C., Stowell, E. C. Effects of polyphosphates on the solubility and mineral of HA: relevance of a rationale for anticarie activity. *Journal of Dental Research*. 1977; 56:579-87
8. De Castro, L. P. et al. In vitro effect of sodium trimetaphosphate additivo to conventional toothpastes on enamel demineralization. *Clinical Oral Investigations*. 2015; 19(7): 1683-7
9. Manarelli, M. M. et al. In vitro remineralizing effect of fluoride varnishes containing sodium trimetaphosphate. *Caries Research*. 2014; 48(4): 299-305
10. Manarelli, M. M. et al. In situ remineralizing effect of fluoride varnishes containing sodium trimetaphosphate. *Clinical Oral Investigations*. 2015; 19(3): 2141-46
11. Favretto, C. O. et al. In vitro evaluation of the effect of mouth rinse with trimetaphosphate on enamel demineralization. *Caries Research*. 2013; 47(5): 532-8.
12. Indira R. The effect of two bleaching agents on the phosphate concentration of the enamel evaluated by raman spectroscopy: an ex vivo study. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2012;
13. González-Solíz, J.L.; Martínez-Cano, E.; Magana-López, Y.; Early detection of dental fluorosis using Raman spectroscopy and principal component analysis. *Lasers in Medical Science*. 2015; 30(6): 1675-81

14. Mohanty, B. et al. Characterizing and identifying incipient carious lesions in dental enamel using micro-Raman spectroscopy. *Caries Research*. 2012; 47(1): 27-33
15. Movasaghi Z., Rehman S., Rehman I.U. Raman spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2007; 42: 493-541
16. Lyng F.M. et al. Vibrational spectroscopy for cervical cancer pathology, from biochemical analysis to diagnostic tool. *Experimental and Molecular Pathology*. 2007
17. Angel S.M., Carrabba M., Cooney T.F. The utilization of diode lasers for Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 1995; 51
18. Mahadevan-Jansen A., et al. Near-infrared spectroscopy for in vitro detection of cervical precancers. *Photochemical and Photobiology*. 1998; 68(1)
19. Thaveesangpanich, P.; Itthagarun, A.; King, N.M. The effects of child formula toothpastes on enamel caries using two in vitro pH-cycling models. *International Dental Journal*, v. 55, no. 4, p. 217-223, 2005.
20. Takeshita, E. M. et al. In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Research*. 2009; 43(1): 50-6.
21. Lynch RJM, Mony U, Ten Cate JM. Effect of Lesion Characteristics and Mineralising Solution Type on Enamel Remineralisation in vitro. *Caries Res*. 2007; 41(4):257-62.
22. Gouvêa, D. B. Modelos de ciclagem de pH para indução de lesões artificiais de cárie – análise por microrradiografia transversal. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica/Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2016.
23. Fordyce, R. E. et al. Elemental and chemical characterization of dolphin enamel and dentine using X-ray and Raman microanalyses (Cetacea: Delphinoidea and Inioidea). *Journal of Structural Biology*. 2014; 185: 58-68.
24. da Camara D., Miyasaki M.L., Danelon M., Sasaki K.T., Delbem A.C. Effect of low fluoride toothpastes combined with hexametaphosphate on in vitro enamel demineralization. *Journal of Dentistry*. 2014; 42(3): 256-62.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Até onde se têm conhecimento, esta é a primeira vez que esta metodologia de análise foi utilizada para comparar o potencial remineralizador destes produtos. Estudos adicionais com outras metodologias mais tradicionais são necessários para avaliar a eficácia tanto desta metodologia quanto dos compostos estudados.

REFERÊNCIAS:

ANGEL S. M., CARRABBA M., COONEY T. F. The utilization of diode lasers for Raman spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.51, 1995.

AKKUS, A. et al. Investigation of Intra- and Inter-individual variations of mineralisation in healthy permanent human enamel by Raman spectroscopy. **Oral health and preventive dentistry**, v. 14, no. 4, p. 321-327, Aug. 2016.

DE CASTRO, L. P. et al. In vitro effect of sodium trimetaphosphate additives to conventional toothpastes on enamel demineralization. **Clinical Oral Investigations**, v. 19, no. 7, p. 1683-1687, Mar. 2015.

DELBEM, A.C. et al., In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. **Caries Research**, v. 41, no. 4, p. 263-267, 2007.

DELBEM, A.C. et al., In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. **Caries Research**, v.43, no.1, p. 50-56, 2009.

FAVRETTO, C. O. et al. In vitro evaluation of the effect of mouth rinse with trimetaphosphate on enamel demineralization. **Caries Research**, v. 47, no. 5, p. 532-538, Jun. 2013.

HUNTINGTON, E. et al., The effect of sodium trimetaphosphate on caries: a 3-year clinical toothpaste trial. **Caries Research**, v.30, no.6, p. 418-422, 1996.

GONZÁLEZ-SOLÍZ, J.L.; MARTÍNEZ-CANO, E.; MAGANA-LÓPEZ, Y.; Early detection of dental fluorosis using Raman spectroscopy and principal component analysis. **Lasers in Medical Science**, v. 30, no. 6, p. 1675-1681, Aug. 2015.

INDIRA R. The effect of two bleaching agents on the phosphate concentration of the enamel evaluated by Raman spectroscopy: an ex vivo study. **Contemporary Clinical Dentistry** 2012.

IPPOLITOV, Y. et al. Phase transformations in a human tooth tissue at the initial stage of caries. **PLOS ONE**, v. 10, no.4, Apr. 2015.

LYNG F.M. et al. Vibrational spectroscopy for cervical cancer pathology, from biochemical analysis to diagnostic tool. **Experimental and Molecular Pathology**, 2007.

MAHADEVAN-JANSEN A. et al. Near-infrared spectroscopy for in vitro detection of cervical pre cancers. **Photochemistry and Photobiology**, v.68, no.1, 1998.

- MALTZ, M. et al. Effect of over-the-counter fluoridated products regimens on root caries inhibition. **Archives of Oral Biology**, v. 60, no. 10, p. 1588-1594. Jul. 2015.
- MOLCKOVSKY A. et al. Diagnostic potential of near-infrared Raman spectroscopy in the colon: differentiating adenomatous from hyperplastic polyps. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 57, no. 3, p. 396-402, 2013.
- MANARELLI, M. M. et al. In vitro Remineralizing effect of fluoride varnishes containing sodium trimetaphosphate. **Caries Research**, v. 48, no. 4, p. 299-305, Feb. 2014.
- MANARELLI, M. M. et al. In situ remineralizing effect of fluoride varnishes containing sodium trimetaphosphate. **Clinical Oral Investigations**. V. 19, no. 3, p. 2141-2146, Maio. 2015.
- MCGAUGHEY, C., STOWELL, E.C. Effects of polyphosphates on the solubility and mineralization of HA: relevance to a rationale for anticaries activity. **Journal of Dental Research**. v. 56, no. 6, p. 579-587. Jun. 1977.
- MOHANTY, B. et al. Characterizing and identifying incipient carious lesions in dental enamel using micro-Raman spectroscopy. **Caries Research**, v. 47, no. 1, p. 27-33, Oct. 2012.
- MARTHALER, T.M. Changes in dental caries 1953-2003. **Caries Research**, v. 38, no. 3, p. 173-178. Jun. 2004.
- MASCARENHAS, A.K. Who needs more than 1000 ppm? The epidemiology of high-risk populations. **Caries Research**, v. 50, no.1, p. 1-8, Abr. 2016.
- MOVASAGHI Z., REHMAN S., REHMAN I.U. Raman spectroscopy of biological tissues. **Applied Spectroscopy Review**, v.42, p. 493-541, 2007.
- NEGRI H.M., CURY J.A. Dose-response effect of a dentifrice formulation with low fluoride concentration - an in vitro study. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 16, no. 4, p. 362-365. 2002.
- RAMAN C.V., KRISHNAN K.S. A new type of secondary radiation. **Nature**. 1928.
- SINGH R.C.V. Raman and the discovery of the Raman effect. **Physics in Perspective**, v. 4, p. 399-420, 2002.
- TAKESHITA, E. M. et al. In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. **Caries Research**, v. 43, no. 1, p. 50-56, Jan. 2009.

TAKESHITA, E. M. et al. Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel de- and remineralization in vitro. **Caries Research**, v. 45, no. 5, p. 494-497, Sept. 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para pacientes adultos

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROJETO DE PESQUISA:

Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Elaborado com base na Resolução 466 do Conselho Nacional de Saúde, publicada no DOU No 112, 2012.

Caro participante,

Estamos realizando uma pesquisa de laboratório para avaliar o efeito de produtos que contêm flúor e trimetafosfato na prevenção e tratamento da cárie dentária. Esse tipo de estudo é justificável, pois a adição de trimetafosfato em produtos de higiene oral parece contribuir com a prevenção de cárie dentária.

O estudo está sendo realizado pelo Professor Dr. Jonas de Almeida Rodrigues e pela Cirurgiã-dentista, aluna de mestrado, Daiana Back Gouvea na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Você está sendo convidado a participar do estudo, pois realizou a extração de um dente. Essa extração foi realizada porque havia indicação terapêutica, independentemente da participação na pesquisa. O dente foi extraído apenas por necessidade de saúde.

Esta doação de dente deverá ser realizada com o conhecimento do Sr. (a) sobre os procedimentos a serem executados e seus objetivos, no uso de sua liberdade e sem sofrer qualquer tipo de pressão. Antes de decidir, os pesquisadores irão lhe esclarecer sobre os procedimentos envolvidos na

participação na pesquisa. **Você é livre para doar ou não seu dente. Sua participação é voluntária.** Se desejar participar, sua participação nesta pesquisa envolverá apenas na doação do dente extraído.

O benefício relacionado à participação neste estudo envolve a contribuição com o avanço científico relativo ao tratamento da cárie dentária. Os riscos oferecidos são aqueles inerentes ao procedimento de extração dentária, a qual foi realizada independente da participação ou não no estudo.

Será assegurado o sigilo de suas informações durante todas as fases da pesquisa. Documentos como este serão armazenados em local restrito e somente os pesquisadores terão acesso.

Sua liberdade de recusar-se a participar ou de retirar-se do estudo fica assegurada, de maneira que você pode retirar o consentimento de uso de seu dente a qualquer momento, sem que isso traga prejuízos para sua assistência odontológica.

Todos os esclarecimentos a respeito da pesquisa será feito a você antes de sua decisão sobre participar. E, ainda, se lhe ocorrer alguma dúvida durante o decorrer do estudo, esta poderá ser esclarecida pelos envolvidos nesta pesquisa através do telefone (51) **33085026**. Os pesquisadores Prof. Dr. Jonas de Almeida Rodrigues e a Mestranda Daiana Back Gouvea estarão sempre a disposição para esclarecimentos. Possíveis problemas ou dúvidas podem ser reportados diretamente ao Comitê de Ética Central da UFRGS **+55 51 3308.3738**.

Eu, _____ declaro que fui informado sobre objetivo, justificativa à realização da pesquisa, procedimentos de retirada de autorização da participação no estudo, benefícios, riscos e sigilo, bem como sei dos meus direitos e dos deveres dos pesquisadores. Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo. Estou ciente de que posso a qualquer momento retirar a presente autorização por minha livre vontade e sem qualquer prejuízo.

Este documento foi elaborado em **duas vias** e é assinado pelo participante e pelo pesquisador. Uma das vias é de posse do participante.

DATA: _____ / _____ / _____

ASSINATURA: _____ ENDEREÇO:

TELEFONE: _____

DATA: _____ / _____ / _____

Jonas de Almeida Rodrigues - Pesquisador Responsável

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para menores de idade

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROJETO DE PESQUISA:

Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Elaborado com base na Resolução 466 do Conselho Nacional de Saúde, publicada no DOU No 112, 2012.

Caro responsável,

Estamos realizando uma pesquisa de laboratório para avaliar o efeito de produtos que contêm flúor e trimetafosfato na prevenção e tratamento da cárie dentária. Esse tipo de estudo é justificável, pois a adição de trimetafosfato em produtos de higiene oral parece contribuir com a prevenção de cárie dentária.

O estudo está sendo realizado pelo Professor Dr. Jonas de Almeida Rodrigues e pela Cirurgiã-dentista, aluna de mestrado, Daiana Back Gouvea na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Seu filho (a) está sendo convidado a participar do estudo, pois realizou a extração de um dente. Essa extração foi realizada porque havia indicação terapêutica, independentemente da participação na pesquisa. O dente foi extraído apenas por necessidade de saúde.

Esta doação de dente deverá ser realizada com o conhecimento do Sr. (a) sobre os procedimentos a serem executados e seus objetivos, no uso de sua liberdade e de seu filho (a) e sem sofrer qualquer tipo de pressão. Antes de decidir, os pesquisadores irão lhe esclarecer sobre os procedimentos envolvidos na participação na pesquisa. **Você é livre para permitir que seu**

filho (a) doe ou não o dente. A participação de seu filho é voluntária. Se ele (a) desejar participar, sua participação nesta pesquisa envolverá apenas na doação do dente extraído.

O benefício relacionado à participação neste estudo envolve a contribuição com o avanço científico relativo ao tratamento da cárie dentária. Os riscos oferecidos são aqueles inerentes ao procedimento de extração dentária, a qual foi realizada independente da participação ou não no estudo.

Será assegurado o sigilo das informações sobre seu filho (a) durante todas as fases da pesquisa. Documentos como este serão armazenados em local restrito e somente os pesquisadores terão acesso.

Sua liberdade de recusar-se a permitir a participação do menor ou de retirar o consentimento fica assegurada, de maneira que você pode retirar o consentimento de uso do dente a qualquer momento, sem que isso traga prejuízos para a assistência odontológica de seu filho (a).

Todos os esclarecimentos a respeito da pesquisa será feito a você antes de sua decisão sobre permitir a participação do menor. E, ainda, se lhe ocorrer alguma dúvida durante o decorrer do estudo, esta poderá ser esclarecida pelos envolvidos nesta pesquisa através do telefone (51) **33085026**. Os pesquisadores Prof. Dr. Jonas de Almeida Rodrigues e a Mestranda Daiana Back Gouvea estarão sempre a disposição para esclarecimentos. Possíveis problemas ou dúvidas podem ser reportados diretamente ao Comitê de Ética Central da UFRGS **+55 51 3308.3738**.

Eu, _____, declaro que fui informado sobre objetivo, justificativa à realização da pesquisa, procedimentos de retirada de autorização da participação no estudo, benefícios, riscos e sigilo, bem como sei dos direitos do menor sob minha responsabilidade e dos deveres dos pesquisadores. Autorizo a participação do menor _____ na pesquisa. Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo. Estou ciente de que posso a qualquer momento retirar a presente autorização por minha livre vontade e sem qualquer prejuízo.

Este documento foi elaborado em **duas vias** e é assinado pelo participante e pelo pesquisador. Uma das vias é de posse do participante.

DATA: _____ / _____ / _____

ASSINATURA: _____ ENDEREÇO:

TELEFONE: _____
 DATA: _____ / _____ / _____

Jonas de Almeida Rodrigues - Pesquisador Responsável

APÊNDICE C – Termo de Assentimento do Menor de Idade

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROJETO DE PESQUISA:

Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos.

Termo de Assentimento do Menor de Idade

Elaborado com base na Resolução 466 do Conselho Nacional de Saúde, publicada no DOU No 112, 2012.

Participante,

Estamos fazendo uma pesquisa sobre cremes e líquidos de passar nos dentes para evitar cárie. A cárie acontece quando as bactérias atacam os dentes e fazem um buraco no dente.

Você está sendo convidado a participar porque você tirou um dentinho. **Você não é obrigado(a) a participar.** Se aceitar, sua participação só doar o dente. É importante lembrar que o dente foi tirado para melhorar a saúde da sua boca.

O bom em participar do estudo é ajudar a ciência na cura da cárie de crianças. A parte ruim é só o incômodo de ter tirado o dente, mas isso acontece mesmo se você não participar da pesquisa.

Você pode não participar ou desistir de participar e não aceitar que usem seu dente para pesquisa, sem deixar de ser atendido pelo dentista.

Eu, _____, ouvi explicações sobre o

que é essa pesquisa. Sei que quando eu tiver dúvidas, posso fazer perguntas. Posso desistir de participar se eu ou minha família quiser. Minha família concordou que eu doe meu(s) dente(s) e eu também, então digo que quero participar dessa pesquisa. Ganhei um papel igual a esse e pude fazer perguntas sobre essa pesquisa.

DATA: ____ / ____ / ____ ASSINATURA DO
MENOR: _____ DATA: ____ / ____ / ____

Jonas de Almeida Rodrigues - Pesquisador Responsável

APÊNDICE D – Termo de Doação de Dente Permanente

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROJETO DE PESQUISA:

Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos.

Eu, _____
_____, residente _____ na
_____,
cidade _____ de _____, estado
_____, CEP _____,
telefone _____, aceito doar o dente _____,
extraído por indicação terapêutica, para utilização na pesquisa "**Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos**". Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, sendo preservada a identidade do doador na divulgação dos resultados.

Porto Alegre, _____ de _____ de 20 ____.

Assinatura do doador

Assinatura do responsável legal (para doadores menores de 18 anos)

APÊNDICE E – Termo de Doação de Dente Decíduo

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROJETO DE PESQUISA:

Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos.

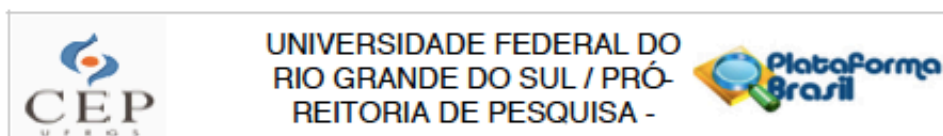
Eu, _____,
responsável legal pelo menor
_____, residente
na _____,
cidade de _____, estado _____, CEP
_____, telefone _____, concordo com a
doação do dente _____, extraído por indicação terapêutica, para
utilização na pesquisa "**Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios
fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações
contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em
esmalte de dentes permanentes e decíduos**". Este projeto foi aprovado pelo
Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, sendo preservada a identidade do
doador na divulgação dos resultados.

Porto Alegre, _____ de _____ de 20 ____.

Assinatura do responsável

ANEXOS

ANEXO A – Termo De Aprovação No Comitê De Ética E Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos.

Pesquisador: Jonas de Almeida Rodrigues

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 56475716.3.0000.5347

Instituição Proponente: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.694.759

Apresentação do Projeto:

O projeto de pesquisa "Avaliação in vitro da efetividade de dentifrícios fluoretados associados a diferentes modos de aplicação de formulações contendo TMP na prevenção e tratamento de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos" é coordenado pelo Prof. Dr. Jonas de Almeida Rodrigues e conta com a participação da Cirurgiã-dentista Daiana Back Gouvea, do Programa de Pós-graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia da UFRGS. Os autores apresentam revisão de literatura adequada, contendo artigos recentemente publicados, demonstrando a relevância do tema da pesquisa.

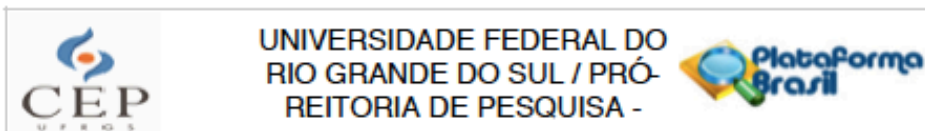
Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do presente estudo é avaliar in vitro o efeito de diferentes formas de administração de produtos fluoretados contendo Trimetafosfato (solução para bochecho, dentifrício e verniz) na prevenção e na progressão de lesões iniciais de cárie em esmalte de dentes permanentes e decíduos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos relacionados a participação a essa pesquisa são inerentes ao procedimento de exodontia, além de risco de quebra de sigilo de informações sobre o participante, que serão minimizados por

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
 Bairro: Farroupilha CEP: 90.040-060
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4085 E-mail: etica@propeq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 1.694.759

meio de adequado armazenamento de documentos como TCLE, Termo de Assentimento e Termo de Doação de Dentes em pastas que apenas os pesquisadores terão acesso. Os benefícios relacionados à participação na pesquisa envolvem a contribuição com o desenvolvimento de novos tratamentos para doença cárie.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão coletados dentes humanos decíduos e permanentes extraídos por indicação terapêutica, independente da realização do estudo. Após a coleta dos dentes, os mesmos serão preparados, em laboratório, e os testes serão realizados in vitro. Não há exposição dos voluntários à procedimentos relativos ao estudo, após a coleta dos dentes. O estudo contará com a doação de dentes decíduos ou permanentes de 40 voluntários (15 voluntários adultos e 25 voluntários menores de idade). A partir destas amostras, serão produzidos 100 blocos de esmalte de dentes permanentes e 100 blocos de esmalte de dentes decíduos. Metade das amostras será exposta à procedimento de indução de lesão de cárie e posteriormente tratada com diferentes dentifrícios, para que se observe a remineralização do esmalte dentário, medida por meio de testes de microdureza superficial e transversal. A outra metade das amostras será exposta aos dentifrícios e posteriormente o procedimento de indução de lesão de cárie será realizado, testando-se o efeito preventivo dos dentifrícios sobre o esmalte dental. Os protocolos serão realizados conforme referenciado na literatura pertinente. Os grupos foram descritos de forma satisfatória. A análise dos dados foi apresentada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória tais como o TCLE para o participante adulto, o TCLE para o responsável pelo paciente menor de idade, o Termo de doação de dentes permanentes, o Termo de Doação de Dentes Decíduos e o Termo de Assentimento constam no projeto de Pesquisa e estão adequados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

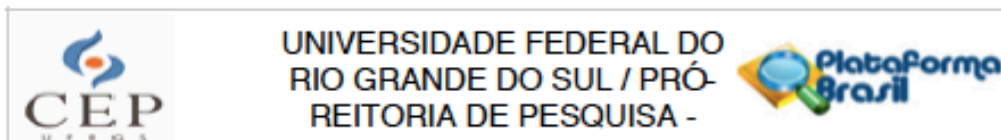
O projeto pode ser aprovado quanto aos aspectos éticos de pesquisa científica envolvendo seres humanos, conforme determinado pela resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
 Bairro: Farrroupilha CEP: 90.040-060
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4065 E-mail: etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 1.694.759

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_704977.pdf	12/08/2016 19:37:28		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_TMP.pdf	12/08/2016 19:37:02	Daiana Back Gouvea	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_menor_de_idade.pdf	12/08/2016 19:35:47	Daiana Back Gouvea	Aceito
Outros	Termo_de_doacao_de_dente_permanente.pdf	20/07/2016 20:13:03	Daiana Back Gouvea	Aceito
Outros	Termo_de_Doacao_de_dente_deciduo.pdf	20/07/2016 20:12:45	Daiana Back Gouvea	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Assentimento.pdf	20/07/2016 20:10:19	Daiana Back Gouvea	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_adultos.pdf	20/07/2016 20:09:48	Daiana Back Gouvea	Aceito
Outros	Email_de_aprovacao_compesq.pdf	25/05/2016 21:03:32	Daiana Back Gouvea	Aceito
Folha de Rosto	Jonas_de_Almeida_Rodrigues.pdf	25/05/2016 21:02:15	Daiana Back Gouvea	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 25 de Agosto de 2016

Assinado por:
MARIA DA GRAÇA CORSO DA MOTTA
 (Coordenador)

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
 Bairro: Farroupilha CEP: 90.040-060
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4065 E-mail: etica@propesq.ufrgs.br