

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

MARIA ELIANA CRUZ DE ALMEIDA

Cirurgiã-dentista

**EFEITO DO LASER DE CO₂ ASSOCIADO AO DENTIFRÍCIO
FLUORETADO NA PREVENÇÃO DE CÁRIE DE SUPERFÍCIE
OCLUSAL – UM ESTUDO *IN SITU***

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da UNICAMP, para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na área de Odontopediatria.

Orientadora: Prof.^a Dra. Marinês Nobre dos Santos Uchôa

Este exemplar corresponde à versão final da Tese defendida pelo aluno, e orientada pela Prof.^a Dra. Marinês Nobre dos Santos Uchôa.

Assinatura do Orientador

Piracicaba 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
GARDÊNIA BENOSSI – CRB8/8644 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

AL64e Almeida, Maria Eliana Cruz de, 1965-
Efeito do laser de CO₂ associado ao dentifrício fluoretado na
prevenção de cárie de superfície oclusal: um estudo in situ / Maria
Eliana Cruz de Almeida. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2011.

Orientador: Marinês Nobre dos Santos Uchoa.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Laser. 2. Flúor. 3. Desmineralização do dente. I. Nobre dos
Santos, Marinês. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

[Informações para a Biblioteca Digital](#)

Título em Inglês: Effects of CO₂ laser combined with fluoridated dentifrice on the
prevention of occlusal surface: an in situ study

Palavras-chave em Inglês:

Lasers

Fluorine

Tooth demineralization

Área de concentração: Odontopediatria

Titulação: Doutor em Odontologia

Banca examinadora:

Marinês Nobre dos Santos [Orientador]

Érico Barbosa Lima

Mirela Sanae Shinohara

Alessandra Peris Mitsui

Sandra Kalil Bussadori

Data da defesa: 28-07-2011

Programa de Pós-Graduação: Odontologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 28 de Julho de 2011, considerou a candidata MARIA ELIANA CRUZ DE ALMEIDA aprovada.

Prof.a. Dra. MARINÉS NOBRE DOS SANTOS UCHOA

Prof.a. Dra. SANDRA KALIL BUSSADORI

Prof.a. Dra. MIRELA SANAE SHINOHARA

Prof. Dr. ÉRICO BARBOSA LIMA

Prof.a. Dra. ALESSANDRA REZENDE PERIS

Dedicatória

Aos meus pais *Roberval e Lindalva* (*in memoriam*), pela educação, amor, carinho e apoio incondicional durante toda a minha vida.

Ao meu marido *Márcio*, grande parceiro, que sempre embarcou nas minhas empreitadas, me apoiando, orientando, e incentivando nos momentos em que eu me desesperava... Obrigada por tudo, amo você.

Aos meus filhos *Lyvia e Kafyl*. Por muitas e muitas vezes, tive que deixá-los para realizar esse sonho. Foi muito difícil. Cada ida deixava meu coração em pedaços, mas consegui! Fui e venci! Fiz por vocês.

Às minhas irmãs *Socorro, Suelly e Silvia* e aos meus cunhados *Geraldo, Mauro e Kevin* por me apoiarem em todos os meus sonhos.

À minha sobrinha e afilhada *Camila Falabella*, grande Designer que foi a responsável pela ilustração desse trabalho, valeu Milinha você foi dez.

Meus sobrinhos queridos *Lailla, David e Philip*, tia ama vocês.

Agradecimentos Especiais

A *Deus*, responsável pelas minhas vitórias. Sem Ele a meu lado não teria conseguido...

À minha orientadora, Profa. Dra. *Marinês Nobre dos Santos Uchôa*, meu muito obrigada pelas orientações, ensinamentos e palavras de apoio e incentivo.

Às minhas amigas *Kathleen Rebelo de Sousa e Andrea Moutinho da Costa*, por serem tão especiais e por terem sempre uma palavra de apoio e um ombro amigo, quando muitas vezes eu estava esmorecendo.

Aos *Voluntários* do estudo *in situ* que tornaram possível a realização da parte experimental.

À *Edilene*, meu braço direito que durante esses anos todos cuida da minha casa e dos meus filhos, possibilitando assim a realização dos meus sonhos.

À *Sandra, Cintia, Keron*, minhas assistentes de clínica, que fazem parte dessa história.

À *Maureen* pela dedicação e pelo atendimentos dos pacientes durante minha ausência.

À comissão idealizadora deste Doutorado Interinstitucional (DINTER), da Universidade do Estado do Amazonas: Prof. *João Batista Noronha, e Andrea Melo Moutinho da Costa*, que juntos comigo embarcaram nesse sonho que agora se torna realidade.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do seu Magnífico Reitor Prof. Dr. **Fernando Ferreira Costa**, pela participação desta conceituada instituição no meu crescimento científico, profissional e pessoal.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do seu diretor Prof. Dr. **Jacks Jorge Junior**.

À Coordenadora do curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP Prof.^a Dra. **Cíntia Pereira Machado Tabchoury**.

À Coordenadora do Dinter em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-FOP/Unicamp/Uea Prof.^a Dr.^a **Maria Beatriz Duarte Gavião**.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pela bolsa concedida.

Ao Prof. Dr. **Walmir de Albuquerque Barbosa** e ao Prof. **Benedito Taveira dos Santos** que acreditaram nesse projeto para formar um quadro de doutores.

À comissão da FOP/UNICAMP: Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo, Prof. Dr. **Pedro Luiz Rosalen**, Prof. Dr. **Roger William Fernandes Moreira**, que nos receberam nesta instituição.

A Universidade do Estado do Amazonas (UEA), aos coordenadores Profa. Dra. **Tânia Miranda Chicre Alcântara**, Prof. Dr. **Marcelo Diniz Carvalho**, Prof. **Benedito Taveira dos Santos** e Prof. **Jonas Alves de Oliveira**.

Aos Coordenadores do Programa de DINTER na Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Prof. Dr. **José Antonio Nunes de Melo** e Prof. Dr. **Fábio Hiroyuki Ogata Mitsui**.

À Secretaria de Saúde do Município (SEMSA) e à Assembleia Legislativa do Estado do Amazonas (ALE-AM), pela minha dispensa possibilitando assim a realização deste trabalho.

Aos amigos, professores da graduação da Disciplina de Odontopediatria, Profa. Dra. **Gimol de Resende Prestes**, Profa. **Josiene Henriques**, Profa. **Savana Maia Gallo**, Prof. **Ary Alves Filho**, Profa. **Regiana de M Góes Sousa** e da Odontologia Social e Preventiva, Profa. Dra. **Nicia Oliveira Marques** e Prof. **Carlos Eduardo Nossa Tuma**, e a todos os docentes da Graduação em Odontologia da UEA.

Aos Dr. **André Luiz Barreiros** e Dr. **Brígido Torres Nogueira Junior**, pelo apoio e pelos materiais fornecidos à pesquisa.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria, Profa. Dra. **Maria Beatriz Duarte Gavião**, Profa. Dra. **Regina Maria Puppim Rontani**, Profa. Dra. **Fernanda Miori Pascon** e Prof. Dr. **Érico Barbosa Lima** e a todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da FOP-UNICAMP.

Aos amigos, funcionários da Odontopediatria, **Caroline Steiner-Oliveira**, **Thais Parisotto**, **Eliana Rodrigues**, **Bruna Zancopé**, **Livia Rodrigues**, **Ariany Carvalho** e **Marcelo Corrêa Maistro** pela ajuda.

Às Professoras, Profa. Dra. **Maria Beatriz Duarte Gavião**, Profa. Dra. **Cíntia Pereira Machado Tabchoury** e Profa. Dra. **Fernanda Miori Pascon**, membros da banca de qualificação, pelas sugestões para a realização e finalização deste trabalho.

Aos Professores Prof. Dr. **Érico Barbosa Lima**, Prof^ª. Dra. **Mirela Sanae Shinohara**, Prof^ª. Dra. **Alessandra Peris Mitsui** e Prof^ª. Dra. **Sandra Kalil Bussadori**, membros da banca de defesa, pelas sugestões.

Às secretárias **Maria Elisa dos Santos, Érica A. Pinho Sinhoreti e Raquel Q. Marcondes Cesar Sacchi** pela ajuda e atenção em todas as fases administrativas.

Ao Prof. Dr. **Alberto Carlos Botazzo Delbem** e a FGM Produtos Odontológicos, Joinville - SC, Brasil pela concessão dos dentifrícios utilizados neste trabalho.

À equipe do Laboratório Especial de Laser em Odontologia-LELO da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo pela utilização do laser de CO₂ OPUS 20.

À **Eliene A. Orsini Narvaes**, que sempre solícita e com um belo sorriso, me orientou e me ajudou com a análise de Microscopia de Luz Polarizada.

Ao **Adriano Luis Martins** que com seu bom gosto musical deixava a sala do MEV mais agradável.

À Profa. Dra. **Lidiany Karla A. Rodrigues**, pelo carinho e atenção durante a realização desta pesquisa.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo (USP), pelo uso do Laboratório de Melhoramento de Plantas para esterilização dos blocos dentários, especialmente ao Sr. **Paulo Cassieri Neto**.

A todos os funcionários da FOP pela colaboração. A todas as pessoas que direta ou indiretamente auxiliaram na concretização deste trabalho.

Muito Obrigada!

"Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer!"
(Mahatma Gandhi)

RESUMO

O declínio na prevalência de cárie tem sido acompanhado por uma alteração no padrão dessa doença, com um aumento da prevalência na superfície oclusal quando comparada às superfícies lisas. Apesar do amplo uso do fluoreto, o seu efeito na prevenção da cárie dental é parcial. A utilização do laser de CO₂ e de tratamentos com flúor têm sido capazes de reduzir a desmineralização do esmalte *in vitro e in situ*. Neste contexto, a aplicação do laser de CO₂ no esmalte dental humano, reduz a desmineralização dos tecidos dentários. Além disto, quando associado ao flúor, o laser de CO₂ tem o seu efeito potencializado. No entanto, os efeitos intra-bucais dessa associação na superfície oclusal ainda não foram testados. Este estudo objetivou avaliar *in situ* o efeito do laser de CO₂ $\lambda = 10,6\mu\text{m}$ associado ao dentifrício fluoretado na redução da desmineralização do esmalte da superfície oclusal. Para isto, foi realizado um estudo duplo-cego, com delineamento *cross-over* em duas fases, durante as quais 16 voluntários usaram dispositivos palatinos contendo dois espécimes de esmalte dentário humano cada. Para promover o desafio cariogênico, foi utilizada uma solução de sacarose a 20% sobre as amostras, oito vezes ao dia em horários pré determinados. Em cada fase, cada espécime recebeu um dos seguintes tratamentos: (1) dentifrício não fluoretado (Grupo Controle), (2) irradiação com laser de CO₂ mais dentifrício não fluoretado (Grupo laser), (3) dentifrício fluoretado (Grupo Flúor), (4) irradiação com laser de CO₂ mais dentifrício fluoretado (Grupo Laser+Flúor). Os voluntários foram distribuídos aleatoriamente e, aqueles que receberam os tratamentos "Controle" e "Laser" na primeira fase, receberam "Flúor" e "Laser + Flúor" na segunda, e vice-versa. No 14^o dia de cada fase, os espécimes foram coletados, seccionados, e por meio da análise de microdureza em corte longitudinal, avaliou-se a perda mineral do esmalte dentário da superfície oclusal. Foi observado o efeito do laser de CO₂ na morfologia do esmalte de superfície oclusal por microscopia eletrônica de varredura, que mostrou evidência de derretimento e fusão nos espécimes tratados com laser de CO₂. A análise por microscopia de luz polarizada evidenciou que a profundidade de lesão de cárie foi maior no esmalte dentário do grupo Controle quando comparado aos grupos Laser, Flúor e Laser+Flúor. Os resultados do estudo foram analisados estatisticamente pelos testes ANOVA fatorial e Tukey com nível de significância fixado em 5%. Considerando-se a perda mineral do esmalte, os resultados obtidos não mostraram diferença estatística significativa entre os grupos

experimentais Laser, Flúor e Flúor + laser e o grupo controle. Estes resultados sugerem que o laser de CO₂ combinado ou não com o dentifrício fluoretado não foi efetivo em reduzir a perda mineral do esmalte da superfície oclusal.

Palavras-chave: Laser de CO₂, Dentifrício fluoretado, Esmalte dentário, Cárie dentária.

ABSTRACT

The decline in caries prevalence has been accompanied by changes in the pattern of this disease, with an increasing prevalence of caries in the occlusal surfaces compared to smooth surfaces. Despite the widespread use of fluoride, its effect on prevention of dental caries is partial. The use of CO₂ laser and fluoride treatments have been able to reduce enamel demineralization *in vitro* and *in situ*. In this context, the application of CO₂ laser on human enamel may inhibit demineralization of dental tissues. In addition, when combined with fluoride, the CO₂ laser has its effect increased. However, the intra oral effects of this association in the occlusal surface have not been tested yet. Therefore the objective of this thesis was to determine the effects of CO₂ laser ($\lambda = 10.6 \mu\text{m}$) *in situ* associated or not with dentifrice in inhibiting demineralization of the enamel in the occlusal surface. For this, we performed a randomized double-blind, cross-over study in two phases, in which each one of the 16 volunteers wore a palatal appliance containing two specimens of human tooth enamel. To promote the cariogenic challenge, we used a drop of sucrose solution at 20% on the samples, eight times a day at pre-determined times. At each phase, each specimen received one of the following treatments: (1) non-fluoridated toothpaste (Control Group), (2) CO₂ laser irradiation more toothpaste without fluoride (Group laser), (3) dentifrice (Group Fluoride) (4) CO₂ laser irradiation with more fluoride toothpaste (fluoride + laser group). The volunteers were randomly assigned and those who received treatments "Control" and "Laser" on the first phase received "Fluoride" and "Laser + Fluoride" in the second, and vice versa. On the 14th day of each phase, the specimens were collected, sectioned, and the mineral loss of enamel in the occlusal surface was evaluated determined by microhardness analysis.. We observed the effect of CO₂ laser on morphology of the occlusal surface's enamel was evaluated by scanning electron microscopy, which showed evidence of melting and fusion in specimens treated with CO₂ laser. Qualitative analysis by polarized light microscopy showed that the depth of carious lesions was higher in the enamel of the Control group compared to "Laser", "Laser + Fluoride" and "Fluoride" groups. The study results were statistically analyzed by factorial ANOVA and Tukey tests with significance level set at 5%. Considering the mineral loss of enamel, the results showed no statistically significance difference between experimental groups

“Laser”, “Fluoride” and “Fluorine + laser” and the “Control” group. These results suggest that the CO₂ laser combined or not with fluoride toothpaste was not effective in reducing mineral loss of enamel of the occlusal surface.

Key-words: CO₂ laser; Fluoridated dentifrice; dental enamel; dental caries.

SUMÁRIO

I-INTRODUÇÃO GERAL	01
II-PROPOSIÇÃO	04
III-CAPÍTULO	05
Capítulo 1. Efeito do Laser de CO ₂ e do Dentífrico Fluoretado na Inibição da Perda Mineral do Esmalte de Superfície Oclusal- Estudo <i>in situ</i>	
IV-. CONCLUSÃO GERAL	26
V- REFERÊNCIAS	27
ANEXOS	33

I- INTRODUÇÃO GERAL

Durante as últimas décadas tem-se observado redução considerável na experiência de cárie em crianças e na população de adolescentes de nações desenvolvidas (Kaste *et al.*, 1996; Clarkson *et al.*, 2000; Messer, 2000; Seppa, 2001; Petersen *et al.*, 2005, Jacobsson *et al.*, 2011), assim com também no Brasil (Narvai *et al.*, 2006).

O último levantamento epidemiológico (Ministério da Saúde, 2010), coloca o Brasil entre os países com baixa prevalência de cárie, principalmente na faixa etária de 15 a 19 anos. No entanto, subgrupos de populações ainda apresentam alta prevalência, mesmo com a melhora geral dos índices.

Adicionalmente, o declínio na prevalência de cárie tem sido acompanhado de alteração no padrão de cárie com aumento da prevalência na superfície oclusal quando comparada às superfícies lisas (Hannigan *et al.*, 1998; Macek *et al.*, 2003; Batchelor & Sheiham, 2004). Neste contexto, a superfície oclusal dos primeiros molares permanentes representa aquela mais susceptível ao desenvolvimento de cárie (Ripa *et al.*, 1988). Isto é decorrente da complexa morfologia observada, da dificuldade de remoção do biofilme dental na região de sulcos e fissuras (König, 1963; Rohr *et al.*, 1991), do menor conteúdo mineral das fissuras oclusais (Robinson *et al.*, 1992) e da menor difusão do íon flúor nas regiões mais profundas da fissura minimizando o efeito deste íon na progressão da cárie (Pearce *et al.*, 1999).

Várias pesquisas confirmam que a superfície oclusal dos molares permanentes constitui as superfícies de maior prevalência de cárie dentária na faixa etária de 6 a 20 anos. (Ripa *et al.*, 1988; Carvalho *et al.*, 1989; Macek *et al.*, 2003; Batchelor & Sheiham, 2004). As tendências observadas justificam a necessidade de proteção específica e medidas de vigilância para a prevenção de cárie oclusal (Frazão, 2011).

Entre os métodos tópicos de uso de flúor, o dentifrício fluoretado é considerado o mais relevante na acentuada redução da prevalência de cárie (Bratthall, 1996, Marthaler, 2003). Já foi demonstrado que o flúor do dentifrício é capaz de reduzir a perda de mineral do esmalte de dente íntegro, ou ativar a reposição de mineral do dente com lesão de cárie (Lynch *et al.*, 2004), aumentando em 2 vezes a capacidade da saliva de repor mineral na superfície do esmalte desmineralizado (Cury, 2002).

Assim, faz-se necessário desenvolver medidas preventivas efetivas para o controle e prevenção da cárie de cicatrículas e fissuras. Neste sentido, é reconhecida a importância dos selantes de cicatrículas e fissuras na prevenção da cárie de superfície oclusal. Embora a efetividade e segurança clínica dos selantes tenha sido confirmada em mais de 30 anos de pesquisa (Grande *et al.*, 2000; Feigal, 2002; Locker *et al.*, 2003; Adair, 2003; Ahovuo-Saloranta *et al.*, 2008; Berger *et al.*, 2010; Simonsen & Neal, 2011), Heyduck *et al.*, 2006, questionaram o efeito deste agente de prevenção da cárie de superfície oclusal e salientaram que os selantes são efetivos apenas na superfície oclusal apenas de indivíduos com baixo ou moderado risco de cárie. Isto deve-se em parte ao fato de que, de acordo com Carvalho *et al.*, (1991; 1992), os selantes de fôssulas e fissuras bloqueiam a superfície oclusal, susceptível à carie, sem no entanto interferir nos fatores etiológicos ou na atividade de cárie do indivíduo (disponibilidade de substrato, quantidade de bactéria e produção de ácido).

Esta observação resalta a importância de se aperfeiçoar os métodos tradicionais existentes, como também introduzir estratégias preventivas, que sejam mais efetivas na prevenção e controle da cárie de superfície oclusal. Um método racional de prover maior proteção a esta superfície seria pela modificação química e morfológica da estrutura do esmalte dental (hidroxiapatita) da superfície oclusal. Neste contexto, inúmeras pesquisas demonstram que a irradiação do esmalte dental de superfície lisa com o laser de CO₂ torna o mesmo mais resistente ao desenvolvimento da cárie (Kuroda & Fowler, 1984; Meurman *et al.*, 1997; Featherstone *et al.*, 1998; Kantorowitz *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2001; Nobre dos Santos *et al.*, 2001, Featherstone 2001; Tsai *et al.*, 2002; Klein *et al.*, 2005; Steiner-Oliveira

et al., 2006a; Rodrigues *et al.*, 2006; Tagliaferro *et al.*, 2007; Steiner-Oliveira *et al.*, 2007; Esteves-Oliveira *et al.*, 2008). No que concerne a superfície oclusal, a pesquisa realizada por Nobre dos Santos *et al.* (2002) evidenciou *in vitro* a efetividade do laser de CO₂ na redução da desmineralização do esmalte de superfície oclusal. Por outro lado, recentemente, o estudo clínico realizado por Rechmann *et al.* (2011) demonstrou que após 6 meses, o laser de CO₂ não foi efetivo em prevenir a cárie dental na superfície oclusal, utilizando um comprimento de onda de 9,6 μm. Assim, esta pesquisa teve com objetivo avaliar os efeitos do laser de CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$) associado ou não ao dentifrício fluoretado na inibição da desmineralização do esmalte de superfície oclusal.

II-PROPOSIÇÃO

Os objetivos desse estudo foram:

- 1) Avaliar *in situ* os efeitos do laser de CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$) associado ou não dentifício fluoretado na redução da desmineralização do esmalte de superfície oclusal.
- 2) Analisar o efeito do laser de CO₂ na morfologia do esmalte da superfície oclusal por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura.

III-CAPÍTULOS

Esta tese está baseada na Resolução CCPG/001/98/UNICAMP que regulamenta o formato alternativo para teses de Mestrado e Doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou co-autoria do candidato (Anexo I). Por tratar-se de pesquisa envolvendo seres humanos, o projeto desta tese foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, tendo sido aprovado sob o parecer nº 092/2008 (Anexo I). Assim sendo, esta tese é composta de 01 capítulo contendo artigo a ser submetido para publicação em revista científica conforme descrito abaixo:

CAPITULO 1

Efeito do Laser de CO₂ e do Dentífrico Fluoretado na Inibição da Perda Mineral do Esmalte de Superfície Oclusal- Estudo *in situ*

Almeida, Maria Eliana Cruz^{1,2}
Steiner-Oliveira, Carolina²
Parisotto, Thais M²
Rodrigues, Lidiany Karla Azevedo³
Nobre-dos Santos, Marinês²

^{1,2} Universidade do Estado do Amazonas, Av Carvalho Leal, 1777 Cachoeirinha,
Manaus/AM, Cep 69000-000, Brazil

² Faculdade de Odontologia de Piracicaba /Unicamp Av. Limeira, 901, Piracicaba, SP
13414-900, Brazil

³ Universidade Federal do Ceará, Rua Monsenhor Furtado S/N, Fortaleza, Cep 60430-370,
Brazil

Full address of the author to whom correspondence should be sent:

Prof. Marinês Nobre dos Santos
Av. Limeira 901, Piracicaba, SP.
13414-903, Brazil
Phone: #55-19-2106-5290/5287
Fax: #55-19-2106-5218
E-mail: nobre@fop.unicamp.br

Key-words: CO₂ laser; Fluoridated dentifrice; occlusal surface; dental caries.

ABSTRACT

The use of CO₂ laser and fluoride treatments have been able to reduce enamel demineralization *in vitro* and *in situ*. However, the intra-oral effects of this association in occlusal surface have not been tested. This study aimed to assess the effect of a CO₂ laser $\lambda = 10.6 \mu\text{m}$ *in situ* and the use of fluoridated dentifrice on the reduction of enamel demineralization. For this purpose, a double-blind cross-over study was performed in two phases, in which 16 volunteers wore acrylic palatal appliances containing two human enamel slabs. In each phase, the slabs received one of the following treatments: (1) non-fluoride dentifrice (Control group), (2) laser irradiation plus non-fluoride dentifrice (Laser group), (3) fluoride dentifrice (Fluoride group), and (4) laser irradiation plus fluoride dentifrice (Laser+fluoride group). The volunteers were randomly allocated to treatments, and those who received treatments "Control" and "Laser" in the first phase received "Fluoride" and "Laser+fluoride" in the second one, and *vice versa*. On the 14th day of each phase, the specimens were collected, sectioned, and, through analysis of microhardness in the longitudinal section, the mineral loss of enamel of the occlusal surface was evaluated. We observed the effect of CO₂ laser on enamel morphology by scanning electron microscopy, which showed evidence of melting and fusion in specimens treated with CO₂ laser. Qualitative analysis by polarized light microscopy showed that the depth of carious lesions was higher in the enamel of the Control group when compared to groups Laser, Laser + Fluoride and Fluorine. The study results were statistically analyzed by factorial ANOVA and Tukey tests with significance level set at 5%. Considering the mineral loss of enamel, the results showed no statistically significant difference between experimental groups Laser, Fluoride and Fluoride + laser and the control group. These results suggest that the CO₂ laser combined or not with fluoride toothpaste was not effective in reducing mineral loss of enamel of the occlusal surface.

Introdução

O declínio na prevalência de cárie tem sido acompanhado de alteração no padrão de cárie com aumento da prevalência na superfície oclusal quando comparada às superfícies lisas (Hannigan *et al.*, 1998; Macek *et al.*, 2003; Batchelor & Sheiham, 2004). Neste contexto, a superfície oclusal dos primeiros molares permanentes representa aquela mais susceptível ao desenvolvimento de cárie (Ripa *et al.*, 1988). Isto é decorrente da complexa morfologia observada, da dificuldade de remoção do biofilme dental na região de sulcos e fissuras (König, 1963; Rohr *et al.*, 1991), do menor conteúdo mineral das fissuras oclusais (Robinson *et al.*, 1992) e da menor difusão do íon flúor nas regiões mais profundas da fissura minimizando o efeito deste íon na progressão da cárie (Pearce *et al.*, 1999).

Assim, faz-se necessário desenvolver medidas preventivas efetivas para o controle e prevenção da cárie de cicatrículas e fissuras. Embora a efetividade e segurança clínica dos selantes tenha sido confirmada em mais de 30 anos de pesquisa (Grande *et al.*, 2000; Feigal, 2002; Locker *et al.*, 2003; Adair, 2003; Ahovuo-Saloranta *et al.*, 2008; Berger *et al.*, 2010; Simonsen & Neal, 2011), Heyduck *et al.*, 2006, questionaram o efeito deste agente de prevenção da cárie de superfície oclusal e salientaram que os selantes são efetivos apenas na superfície oclusal apenas de indivíduos com baixo ou moderado risco de cárie. Isto deve-se em parte ao fato de que, de acordo com Carvalho *et al.*, (1991; 1992), os selantes de fósulas e fissuras bloqueiam a superfície oclusal, susceptível à carie, sem no entanto interferir nos fatores etiológicos ou na atividade de cárie do indivíduo.

Esta observação resalta a importância de se aperfeiçoar os métodos tradicionais existentes, como também introduzir estratégias preventivas, que sejam mais efetivas na prevenção e controle da cárie de superfície oclusal. A este respeito, uma série de estudos têm demonstrado que a irradiação do esmalte dental de superfície lisa com o laser de CO₂ torna o mesmo mais resistente ao desenvolvimento da cárie (Kuroda & Fowler, 1984; Meurman *et al.*, 1997; Featherstone *et al.*, 1998; Kantorowitz *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2001; Nobre dos Santos *et al.*, 2001, Featherstone 2001; Tsai *et al.*, 2002; Klein *et al.*, 2005;

Steiner-Oliveira *et al.*, 2006a; Rodrigues *et al.*, 2006; Tagliaferro *et al.*, 2007; Steiner-Oliveira *et al.*, 2007; Esteves-Oliveira *et al.*, 2008). No que concerne a superfície oclusal, a pesquisa realizada por Nobre dos Santos *et al.* (2002) evidenciou *in vitro* a efetividade do laser de CO₂ na redução da desmineralização do esmalte de superfície oclusal. Por outro lado, recentemente, o estudo clínico realizado por Rechmann *et al.* (2011) demonstrou que após 6 meses, o laser de CO₂ não foi efetivo em prevenir a cárie dental na superfície oclusal, utilizando um comprimento de onda de 9,6 µm. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar *in situ* os efeitos do laser de CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$) associado ou não ao dentifício fluoretado na inibição da desmineralização do esmalte dental humano da superfície oclusal.

Material e Método

• Delineamento Experimental

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Odontologia de Piracicaba - FOP sob o número 092/2008, e todos os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Este estudo foi duplo-cego uma vez que o examinador, bem como o técnico que realizou as análises e os voluntários não puderam identificar o tipo de dentifrício e os espécimes de esmalte dentário. A execução desta pesquisa foi realizada em duas fases durante as quais 16 voluntários foram distribuídos aleatoriamente de modo que na primeira fase, os voluntários 1 a 8 fizeram parte dos grupos controle e laser enquanto os voluntários 9 a 16 participaram dos grupos Dentifrício Fluoretado e Laser+dentifrício Fluoretado. Na segunda fase, os voluntários 1 a 8 usaram dispositivos contendo espécimes de esmalte dentário dos grupos Dentifrício Fluoretado e Laser+Dentifrício Fluoretado, enquanto os voluntários 9 a 16 usaram dispositivos contendo espécimes de esmalte dentário dos grupos Controle e Laser. (Figura 1A). Dessa forma, ao final do experimento, todos os voluntários usaram dispositivos contendo espécimes de esmalte dentário submetidos a todos os tratamentos. Os espécimes foram divididos em 4 grupos de acordo com os tratamentos:

- Grupo Controle (Dentifrício não fluoretado)
- Grupo Laser (Irradiação com laser de CO₂ mais dentifrício não fluoretado) LDNF
- Grupo Fluor (Dentifrício fluoretado),
- Grupo Laser+Fluor (Irradiação com laser de CO₂ mais dentifrício fluoretado) LDF

O emprego de dois tratamentos (boca dividida) no mesmo dispositivo intra-oral palatino justifica-se pela ausência de qualquer possível efeito *cross-over* (interferência cruzada) entre os espécimes de esmalte irradiados e não-irradiados. Para os tratamentos com dentifrício devido à possibilidade de efeito *cross-over* não foi empregado o

delineamento de boca dividida (split-mouth design). Assim, os espécimes submetidos ao tratamento com dentifrício fluoretado foram inseridos no mesmo dispositivo. (Figura1A).

- **Obtenção e preparo dos espécimes**

Para este estudo, oitenta terceiros molares humanos superiores e inferiores, impactados e totalmente inclusos, extraídos por razões que não as desta pesquisa foram mantidos numa solução de timol a 0,01% (Amaechi *et al.*, 1999). As coroas foram removidas das raízes dentais, com cortadeira elétrica (Isomet 1000 Buehler, Lake, Bluff, IL, USA) aparelhada com um disco diamantado dupla face (diâmetro 4”x012x1/2 Buehler, Lake, Bluff, IL, USA). Foi escolhido o sulco central uma vez que a pesquisa realizada por Ekstrand *et al.*, (1993) demonstrou que o maior acúmulo de biofilme ocorre nesta área da superfície oclusal e que este achado coincidiu com o início da lesão de cárie nesta referida área.

Para a obtenção dos espécimes de esmalte da superfície oclusal com tamanhos de 5 x 5 x 2 mm, utilizou-se um paquímetro digital (Digimess, 150 mm e resolução 0.01mm), os cortes foram feitos sob refrigeração com água destilada e deionizada e polidos com escova Robinson[®] (KG Sorensen, SP, Brasil) em baixa rotação durante 30 segundos com uma pasta de alumina (BUEHLER-USA) 5 µm e água. Após o polimento, foram lavados com água deionizada por 1 minuto e sonicados durante 5 minutos por duas vezes. Em seguida a superfície circundantes de cada espécie foram cobertos com verniz ácido-resistente (Colorama, CEIL Coml. Exp. Ind. Ltda., São Paulo Brazil). Os espécimes foram armazenados em um recipiente de vidro com tampa rosqueada, imersos em água destilada estéril e em seguida esterilizados em uma câmara de radiação gama (Gammacell 220 Excel, GC-220E; MDS Nordion, Ottawa, Canada) (Rodrigues *et al.*, 2004).

- **Irradiação dos espécimes de esmalte com laser de CO₂**

A irradiação do sulco central da superfície oclusal foi realizada no Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO), da Faculdade de Odontologia da Universidade

de São Paulo, com laser de CO₂ pulsado (Union Medical Engineering Co. Model UM-L30, Yangju-si, Gyeonggi-Do, Korea) com comprimento de onda 10,6 µm, frequência 50 Hz, pulsado a 10 ms com intervalo de 10 ms, diâmetro do feixe de 0.3 mm e potência de 8 W o que proporcionou a densidade de energia de 20 J/cm², de acordo com Steiner-Oliveira *et al.*, (2006 a). Para a determinação precisa da energia de saída do laser de CO₂ utilizou-se um *power meter* (Scientech 373 Model-37-3002, Scientech Inc., Boulder, CO, USA) durante o procedimento de irradiação. A irradiação foi realizada escaneando-se o sulco central da superfície oclusal por aproximadamente 10 s a uma distância de 10 mm da ponta da peça de mão ao espécime, realizando-se movimentos manuais com a ponta do laser de CO₂.

- **Fase clínica**

Para cada voluntário, foram confeccionados, individualmente, 2 dispositivos acrílicos intra-orais palatinos, um para cada fase do experimento. Nestes, duas cavidades foram preparadas com tamanho de 6 x 6 x 3 mm, nos lados direito e esquerdo, onde 1 espécime foi inserido aleatoriamente. Posicionou-se uma tela plástica para permitir o acúmulo de biofilme, e protegê-lo de distúrbios mecânicos. (Benelli *et al.*, 1993) (Figura 1 B).

Para promover o desafio cariogênico, os voluntários foram orientados a remover o dispositivo da cavidade bucal e gotejar uma gota de uma solução de sacarose a 20% sobre cada espécime de esmalte de superfície oclusal, 8 vezes ao dia em horários predeterminados (8.00, 9.30, 11.00, 14.00, 15.30, 17.00, 19.00, e 21.00 H.) (Pecharki *et al.*, 2005). Antes de o dispositivo intra-oral palatino ser recolocado na boca, padronizou-se o tempo de espera de cinco minutos, para difusão da sacarose no biofilme dental. Este modelo segundo Paes Leme *et al.*, (2004), é capaz de simular uma situação de alto desafio cariogênico *in situ*.

Todos os voluntários receberam instruções oral e escrita para utilizar o dispositivo intra-oral durante o dia e a noite, removendo-o apenas durante as refeições e ao executar a higiene bucal (Cury *et al.*, 2000). O tratamento com dentifrício foi realizado 3 vezes ao dia, após as principais refeições. Os voluntários foram orientados a escovar cuidadosamente os dispositivos e os espécimes fora da cavidade bucal durante 5 minutos, e a usar exclusivamente o dentifrício fluoretado a base de sílica, contendo 1100 µg F/g, w:w, como NaF (FGM Produtos Odontológicos, Joinville/SC, Brasil). Os voluntários na fase sem dentifrício fluoretado (DNF) usaram um dentifrício sem fluoreto a base de sílica, (FGM Produtos Odontológicos, Joinville/SC, Brasil).

A execução desta pesquisa foi realizada em duas fases durante as quais 16 voluntários, foram selecionados obedecendo aos seguintes critérios: terem idade entre 20 a 33 anos, serem saudáveis, não terem feito uso de substâncias antimicrobianas nos dois meses antecedentes ao início do estudo, não apresentarem lesão de cárie ativa, ter tido experiência de cárie, formar biofilme dentário de um dia para o outro, não ser fumante, amazonenses, residentes em Manaus onde a água de abastecimento não é fluoretada. Após essa seleção eles passaram por um período de “*wash-out*” de 7 dias em que receberam o dentifrício sem flúor e foram instruídos a interromper o uso de qualquer produto contendo flúor e a ingestão de alimentos e bebidas ricas em flúor, pelo menos sete dias antes do período clínico do estudo.

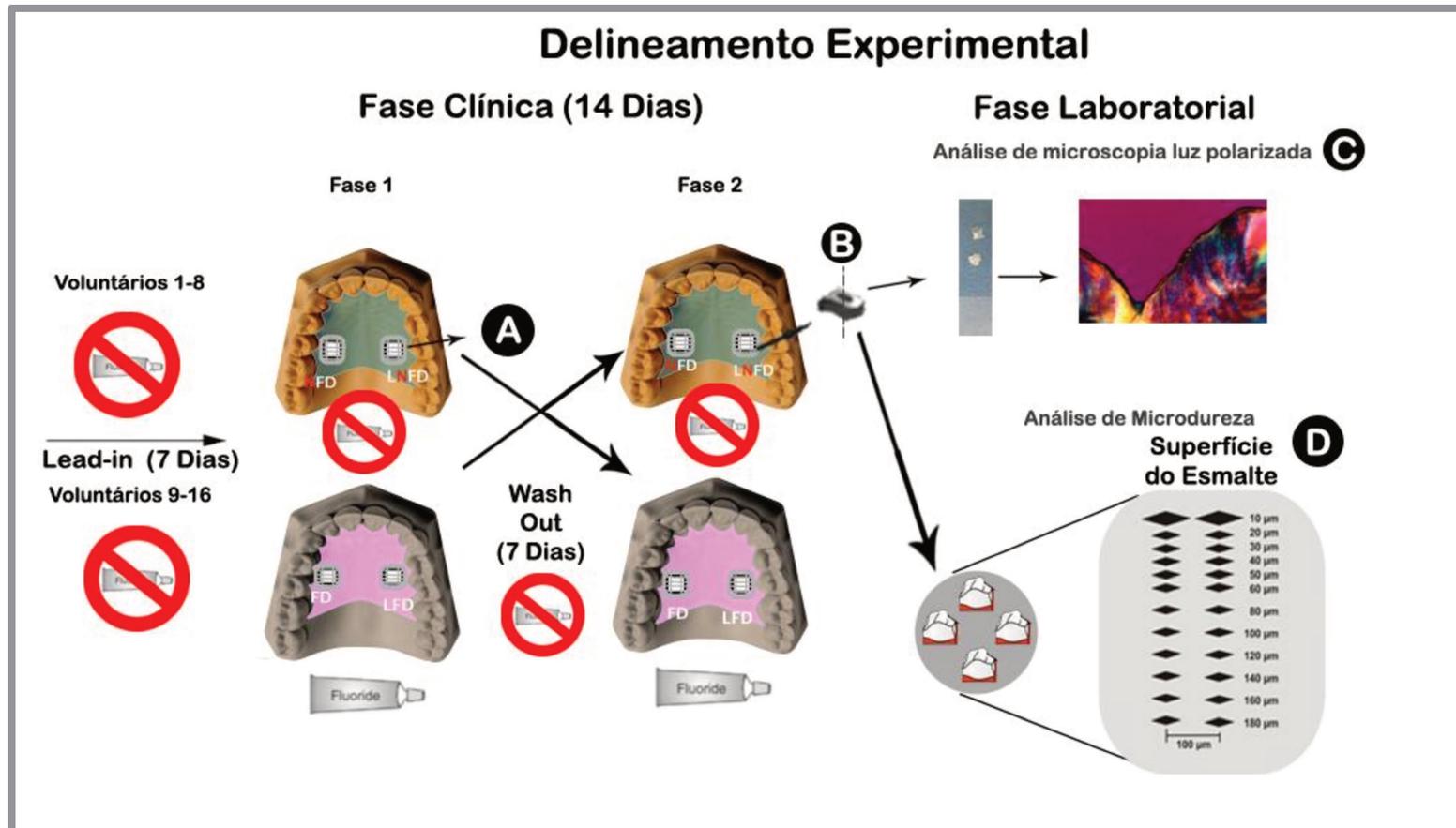


Fig.: 1 Ilustração do delineamento experimental utilizado no estudo

- **Análise de microdureza em corte longitudinal**

Ao término do 14º dia de cada fase, removeu-se o espécime do dispositivo intra-oral e seccionou-se cada espécime longitudinalmente no centro do sulco central e cada uma das metades (Figura 1C) foi embutida em resina acrílica autopolimerizável VIPI FLESH Tipo I (Vipi Indústria e Comércio Exportação e Importação de Produtos Odontológicos Ltda, Pirassununga SP, Brasil), utilizando-se a embutidora PRE30Mi (AROTEC S.A Industria e Comércio - Cotia SP, Brasil).

A seguir, os espécimes foram lixados e polidos com lixas d'água JET 401 (NORTON, Brasil) granulação de 400 a 1200 e pastas diamantadas (BUEHLER-USA) 5 μm /água respectivamente, e a perda mineral do esmalte foi determinada pela análise de microdureza, utilizando o microdurômetro Future Tech FM 9000-ARS e um diamante Knoop (KNH) sob carga de 25 g por 5 s. Foram feitas vinte e quatro indentações (duas fileiras de doze indentações em cada fissura) paralelas à superfície externa do esmalte mantendo-se o intervalo de 10 μm entre as distâncias de 10 μm a 60 μm e a seguir, 20 μm entre 60 μm e 180 μm através da lesão e na camada subjacente do esmalte (Figura 1F). A seguir, fez-se o cálculo integrado da desmineralização do esmalte dentário (ΔS) da seguinte forma: inicialmente, foram obtidos os valores de dureza knoop (NDK) nas profundidades de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160 e 180 μm a partir da superfície externa do esmalte dentário (Sousa *et al.*, 2008). Na sequência, para cada amostra, os valores de dureza knoop foram plotados em função da profundidade e desta forma, foi calculado o perfil de dureza integrada do esmalte tratado. Para profundidades maiores que 100 μm , o NDK foi usado como medida do perfil integrado de dureza do esmalte hígido. Para determinação do ΔS , o perfil de dureza do esmalte tratado foi subtraído daquele obtido para o esmalte hígido.

- **Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Dos dezesseis espécimes de esmalte dentário que não foram usados na fase intra-oral, 08 espécimes irradiados e 08 não irradiados, foram submetidos à análise por microscopia eletrônica de varredura para que fosse analisado o efeito do laser na morfologia do esmalte da superfície oclusal. Para isto, a superfície oclusal de cada espécime foi fixada em um stub e a seguir, coberta com uma fina camada de ouro (aproximadamente 10-12 nm de espessura). Para esta análise, utilizou-se o Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL JSM-5600 LV (JEOL, Tokyo, Japan) com 15kV e aumento de 2.000X.

- **Microscopia de Luz Polarizada**

A possibilidade de utilização da microscopia de luz polarizada para a observação do esmalte dental sadio e cariado é a muito tempo conhecida. Os estudos realizados na metade do século passado utilizando essa técnica permitiram a caracterização histológica detalhada das alterações do esmalte cariado (Holmen et al., 1985). A vantagem da observação em microscópio de luz polarizada é que ela permite uma diferenciação mais clara das várias zonas de uma lesão. Permitindo assim avaliar as descrições qualitativas do esmalte cariado (Wefel & Harless, 1984).

Um espécime de cada grupo foi cortado para obter secções de 200 µm de espessura. Estes foram então polidos com lixas de granulação de 600 e 1200, para obtenção de cortes de 100 ± 20 µm de espessura. Os espécimes foram embebidos em água e observados ao microscópio de luz polarizada Leica DMLP (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) acoplado ao sistema digital Leica FFC 280 para obtenção de fotomicrografias com ampliação padrão de 5x. (Figura 1D)

Análise estatística

A análise estatística utilizada foi ANOVA fatorial e Tukey com nível de significância fixado em 5%.

Resultados

Na presente pesquisa foi avaliada *in situ* a variável dependente, desmineralização do esmalte dentário (ΔS). Os resultados obtidos estão expressos na tabela 1, que mostra a perda mineral do esmalte dentário dos grupos Controle, Laser, Flúor e Laser + Flúor. Estes resultados apresentados também no gráfico 1, evidenciam que nesta condição experimental, não existiram indícios de que a irradiação do esmalte dentário com laser de CO₂ bem como sua associação ao dentifrício fluoretado interferiram no processo de cárie, visto que não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (sem laser e sem flúor).

As observações por microscopia eletrônica de varredura mostraram evidência de derretimento e fusão nos espécimes tratados com laser de CO₂ (Figuras 2A, 2B e 2C).

As observações realizadas por microscopia de luz polarizada evidenciaram que a profundidade de lesão de cárie foi maior no esmalte dentário do grupo Controle quando comparado aos grupos Laser, Flúor e Laser+Flúor (figuras 4A e 4B, 5A e 5B).

Tabela 1. Médias e desvios padrão da perda mineral do esmalte dentário, considerando-se os grupos estudados.

Grupos	Perda Mineral(ΔS) \pm DP	Valor de p
Controle	6545,76 \pm 2281,4	-
Laser	5177,0 \pm 2591,4	0,123
Flúor	5021,6 \pm 2983,6	0,077
Laser+Flúor	4223,7 \pm 2268,8	0,677

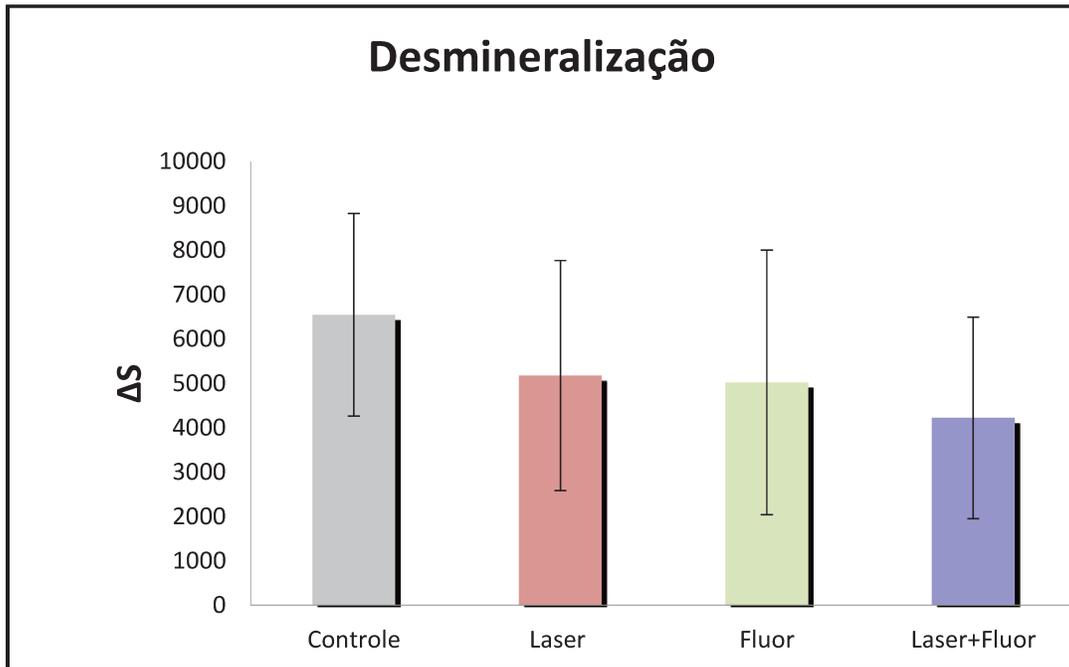


Gráfico 1- Médias e desvios padrão da perda mineral do esmalte dentário (ΔS), dos grupos Controle, Laser, Flúor e Laser +Flúor.

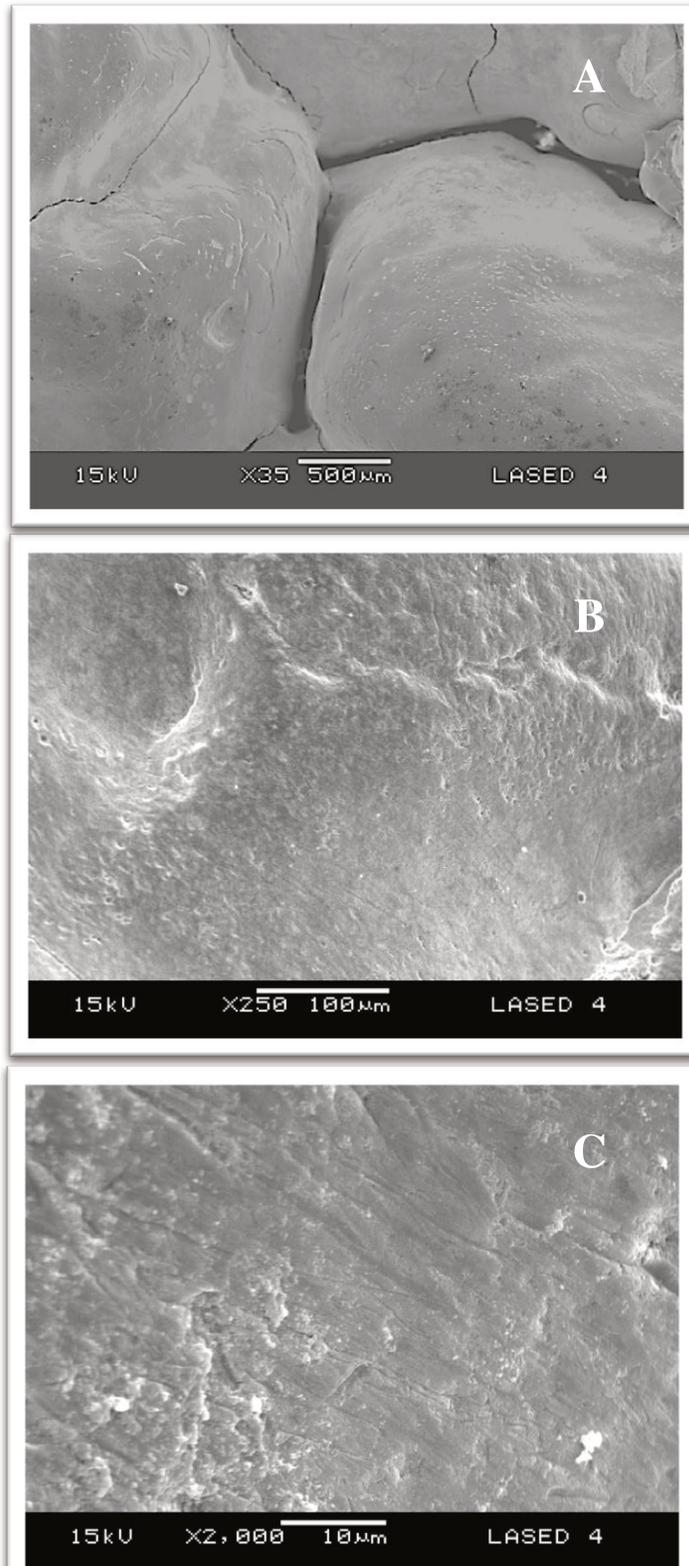


Figura 2 - Fotomicrografia de espécimes de esmalte dentário da superfície oclusal irradiados com laser de CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$), com aumento de 35x(Fig.2 A), 250x (Fig.2B) e 2000x(Fig. 2C) e com densidade de energia de 20 J/cm².

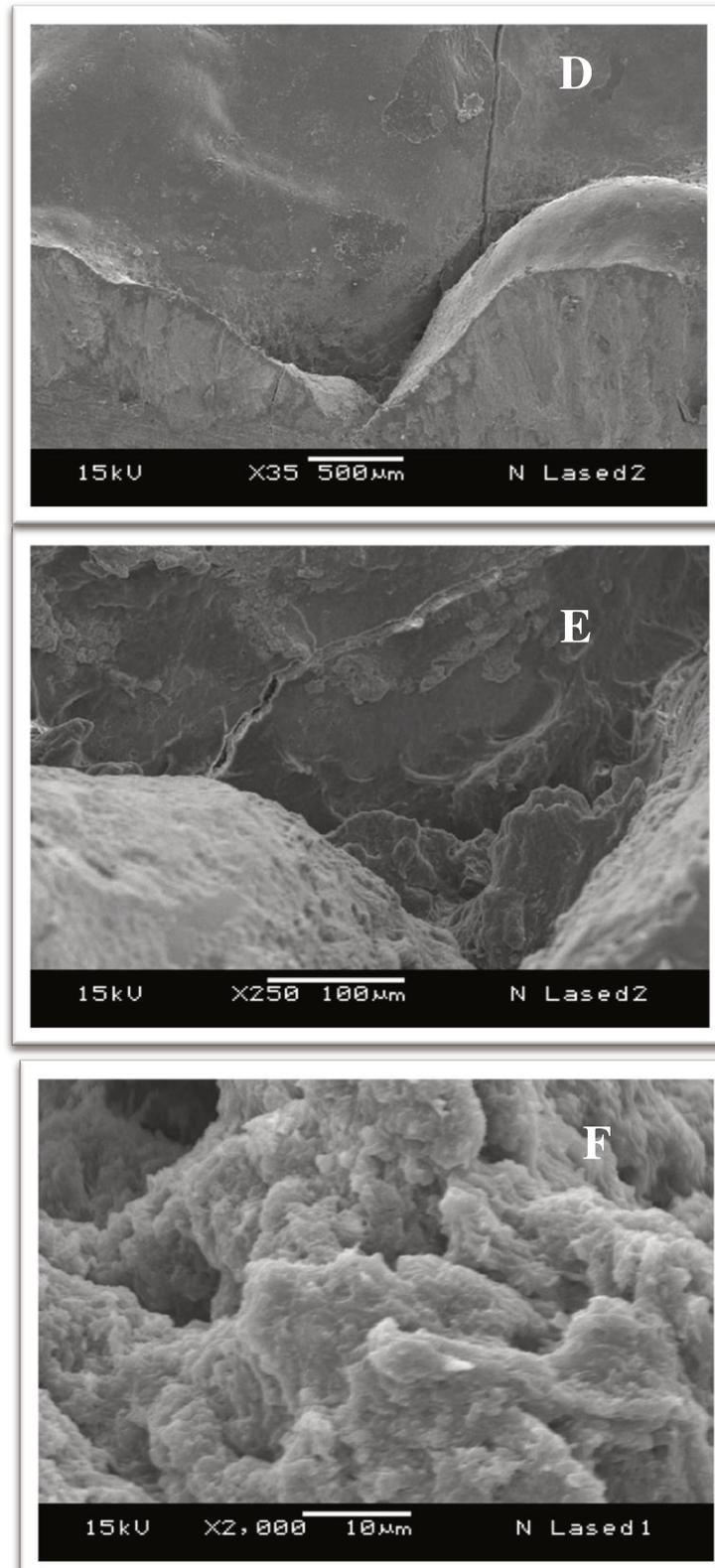


Figura 3 - Fotomicrografia de espécimes de esmalte dentário da superfície oclusal com aumento de 35x (Fig. 3A), 250x (Fig.3B), 2000x (Fig.3C) não irradiados.

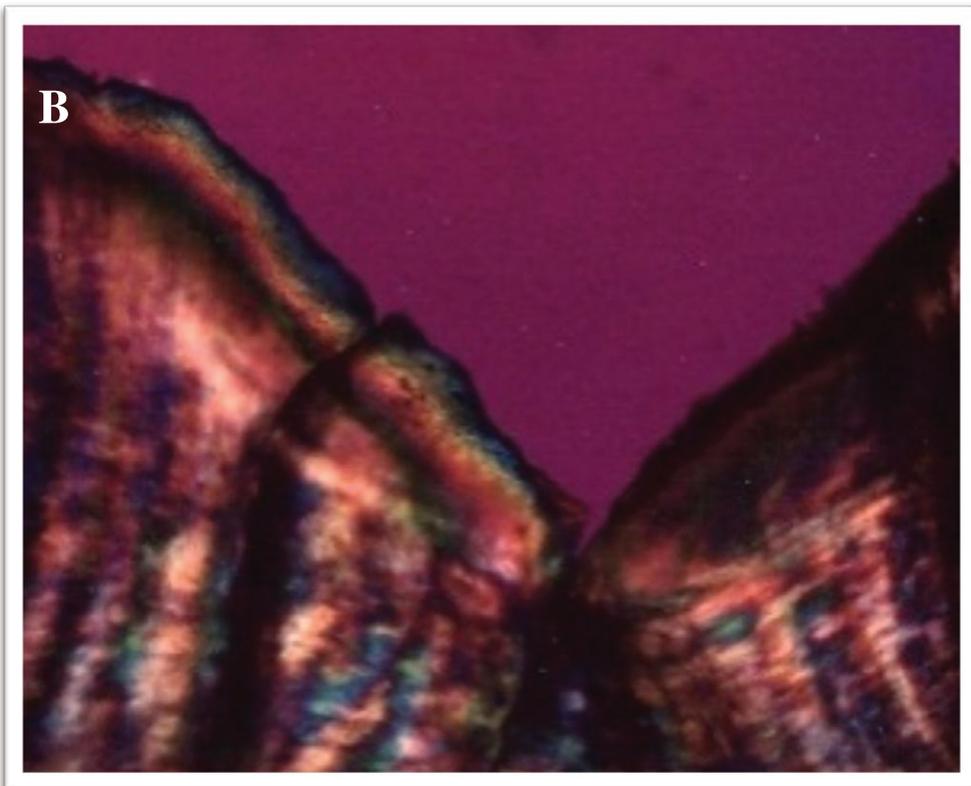
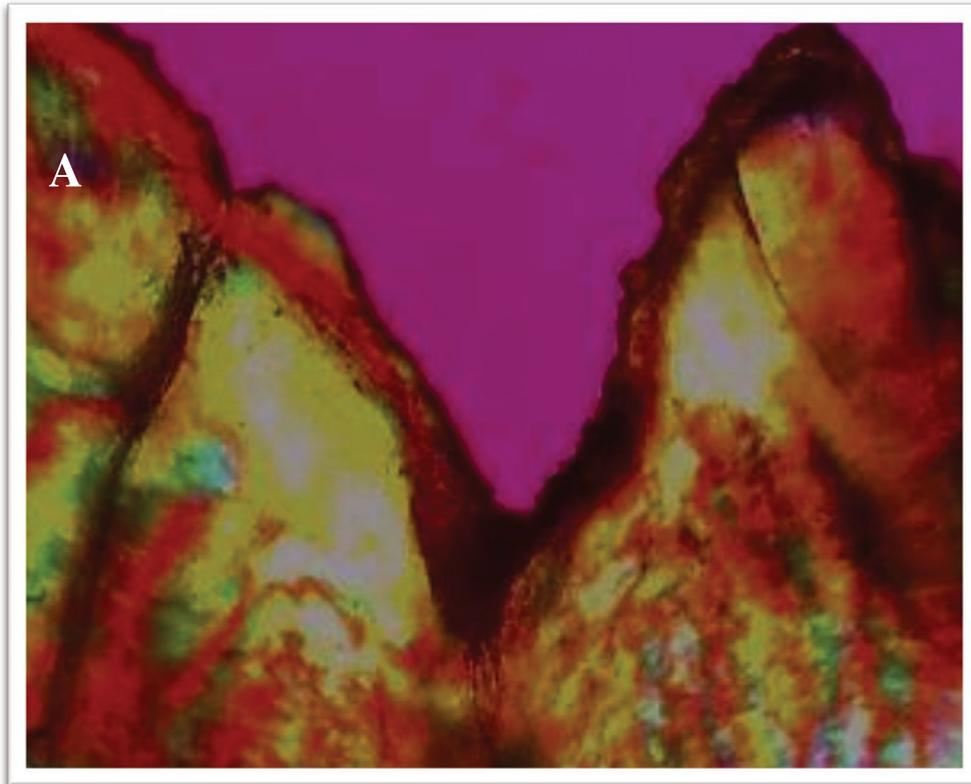


Figura: 4A, 4B: Imagens de microscopia de luz polarizada mostrando padrões de desmineralização dos espécimes do grupo Controle (Fig. 4A) e grupo Laser (Fig. 4B).

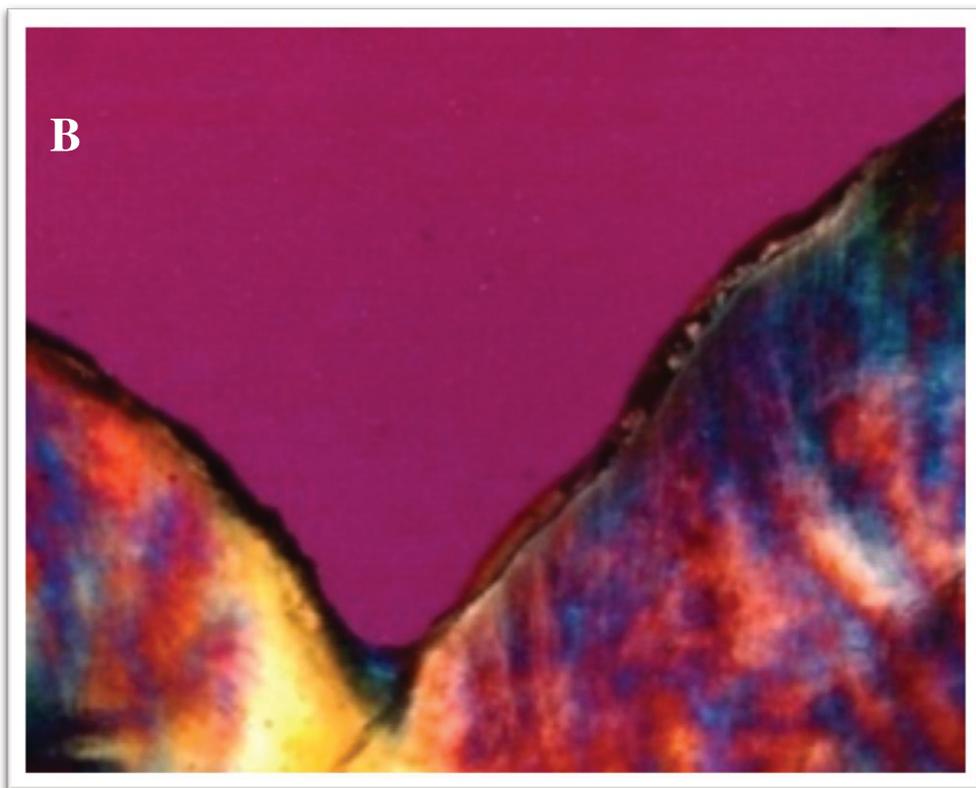
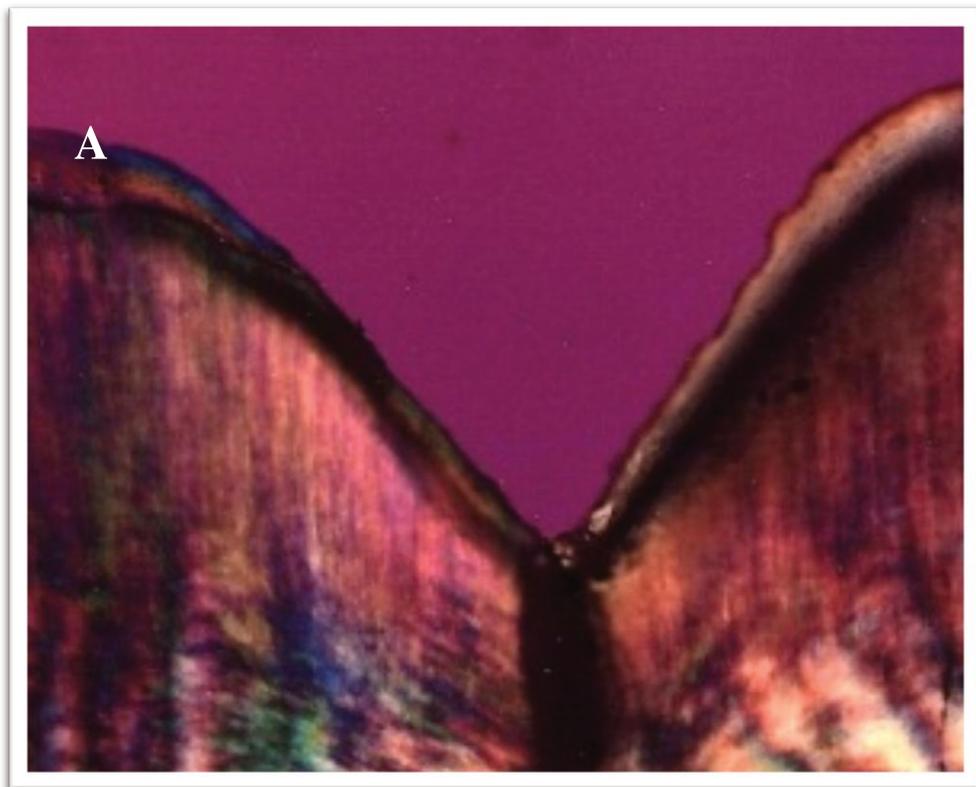


Figura: 5A, 5B: Imagens de microscopia de luz polarizada mostrando padrões de desmineralização dos espécimes dos grupo Flúor (Fig. 5A) e grupo Laser+Flúor (Fig. 5B).

Discussão

Neste estudo *in situ*, o emprego do laser de CO₂ não foi efetivo em reduzir a desmineralização do esmalte dentário da superfície oclusal. Da mesma forma, a associação do laser de CO₂ com o dentífrico fluoretado, não mostrou uma redução significativa da desmineralização do esmalte dentário da superfície oclusal quando comparado com os grupos laser e flúor (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com um estudo *in vivo* recente realizado por Rechmann *et al.* (2011), no qual, embora os autores tenham empregado o laser de CO₂ com um comprimento de onda de 9,6µm, não observaram uma redução significativa da desmineralização do esmalte dentário da superfície oclusal. Por outro lado, os resultados obtidos neste estudo discordam daqueles encontrados em estudos *in vitro* que demonstraram que o laser de CO₂ reduziu significativamente a desmineralização do esmalte de superfície lisa bem como de superfície oclusal. [Featherstone *et al.* (1991); Fox *et al.* (1992); Kantorowitz *et al.* (1998); Hsu *et al.* (1998); Hsu *et al.* (2001); Rodrigues *et al.* (2006); Nobre dos Santos *et al.* (2001); Nobre dos Santos *et al.* (2002); Klein *et al.* (2005); Steiner-Oliveira *et al.* (2006 a); Tagliaferro *et al.* (2007); Steiner-Oliveira *et al.* (2008); Esteves-Oliveira *et al.* (2008)]. Esta diferença de resultado deve-se parcialmente ao fato de que quando comparada a superfície lisa, a irradiação da superfície oclusal, pode ter ocorrido uma perda de energia de modo que a densidade de energia final tenha sido inferior a 20 J/cm². Essa perda de energia decorre da angulação presente na região de sulcos e fissuras uma vez que a densidade de energia final é produto do cosseno do ângulo formado entre o feixe de irradiação e a superfície oclusal. Dessa forma, o esmalte da superfície oclusal pode ter absorvido uma menor quantidade de energia. Outro fator que pode explicar os resultados obtidos refere-se ao coeficiente de absorção do comprimento de onda do laser de CO₂ por nós empregado. Assim, os autores que observaram efetividade do laser de CO₂ na superfície oclusal, utilizaram o comprimento de onda de 9,6 µm que apresenta um coeficiente de absorção pelo esmalte dentário 10 vezes maior (8,000 cm⁻¹) do que o comprimento de onda de 10,6 µm (825 cm⁻¹) (Nobre dos Santos *et al.* 2002). Além disso, estes autores realizaram um estudo *in vitro* no qual as condições experimentais são melhor controladas, o que pode reduzir a variabilidade do experimento e possibilitar a observação

de diferença estatística entre as variáveis analisadas. Estudos futuros devem ser realizados empregando-se um número maior de espécimes no dispositivo intra-oral, com o objetivo de tentar reduzir a variabilidade dos resultados. Outra medida que pode ser empregada para reduzir a variabilidade inerente aos estudos *in situ* seria selecionar os espécimes de esmalte dentário de acordo com o seu conteúdo mineral, empregando-se o método de análise por fluorescência quantitativa (QLF). Lippert *et al.*, (2011).

O efeito *in vivo* do laser de CO₂ com comprimento de onda de 10,6 µm e 15 J/cm², foi avaliado por Kato *et al.*, (2003) que também demonstraram efetividade desse laser na prevenção da cárie dentária na superfície oclusal. No entanto, o delineamento experimental empregado por esses autores não considerou o risco de cárie dos voluntários bem como das superfícies oclusais a serem irradiadas. Os pesquisadores irradiaram as superfícies oclusais de primeiros e segundos molares permanentes de escolares sem informar a faixa etária dos mesmos de forma que 45% das superfícies oclusais irradiadas eram de primeiros molares permanentes que pelo tempo de permanência na cavidade bucal, não apresentavam risco de desenvolvimento de cárie.

Os resultados desta pesquisa mostraram também que o emprego de dentifrício fluoretado não reduziu a desmineralização do esmalte dentário da superfície oclusal *in situ*. Está de acordo com Pearce *et al.* (1999) que demonstraram que o flúor não se difunde na fissura e provavelmente tem um efeito mínimo na redução da perda mineral do esmalte da fissura, o que concorda com os resultados de estudos clínicos que evidenciam a não efetividade do efeitos do flúor na prevenção de cárie de superfície oclusal.

Nesta pesquisa, avaliou-se também os efeitos do laser de CO₂ sobre a morfologia da superfície oclusal irradiada (Fig.2, 2B, 2C). As alterações morfológicas observadas na superfície oclusal irradiada (fusão e derretimento) estão de acordo com relatos de pesquisas anteriormente realizadas (Nelson *et al.*, 1986; McCormack *et al.*, 1995; Kantorowitz *et al.*, 1998; Tepper *et al.*, 2004; Steiner-Oliveira *et al.*, 2006 a). Embora essas alterações estejam relacionadas com uma menor perda mineral do esmalte, neste trabalho a fusão e o derretimento do esmalte de superfície oclusal não promoveram uma redução

significativa da perda mineral do esmalte. Isso foi demonstrado na pesquisa realizada por Kantorowitz *et al.* 1998, verificou que a fusão e o derretimento não são modificações essenciais à redução da perda mineral do esmalte, uma vez que esta pode ocorrer na ausência de tais alterações morfológicas. Em resumo, os resultados desta pesquisa mostraram que embora o laser de CO₂ tenha promovido modificações morfológicas no esmalte dentário de superfície oclusal, este tratamento não reduziu a perda mineral nesta superfície.

IV-CONCLUSÃO GERAL

- Os resultados desta pesquisa demonstraram que o emprego do laser de CO₂ pulsado não foi efetivo em reduzir a desmineralização do esmalte dentário da superfície oclusal.
- Embora o laser de CO₂ tenha promovido modificações morfológicas no esmalte dentário da superfície oclusal, este tratamento não reduziu a perda mineral nesta superfície.

V-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

Adair SM. The role of sealants in caries prevention programs. *J Calif Dent Assoc.* 2003; 31: 221-227.

Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. The use of gamma irradiation for the sterilization of enamel for intra-oral cariogenicity tests. *J Oral Rehabil.* 1999; 26, 809-813.

Ahovuo-Saloranta A, Hiiri A, Nordblad A, Worthington HV, Makela M. Pit and fissure sealants for preventing dental decay in the permanent teeth of children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; Oct 8;(4).

Batchelor PA, Sheiham A. Grouping of tooth surfaces by susceptibility to caries: a study in 5–16 year-old children. *BMC Oral Health* 2004; 4:2.

Benelli EM, Serra MC, Rodrigues AL Jr, Cury JA. In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. *Caries Res.* 1993; 27: 280-284.

Berger S; Goddon I; Chen C; Senkel H; Hickel R; Stösser L; Heinrich-Weltzien R; Kühnisch J. Are pit and fissure sealants needed in children with a higher caries risk?. *Clin Oral Invest.* 2010; 14:613–620.

Bratthall D, Hänsel-Peterson G, Sundberg H. Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *Eur J Oral Sci.* 1996; 104(4): 416-422.

Carvalho JC, Ekstrand KR, Thylstrup A: Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption.. *J Dent Res.* 1989; 68:773.

Carvalho JC, Ekstrand KR, Thylstrup A: Results after 1 year non-operative occlusal caries treatment of erupting permanent first molars. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991; 19: 23–28.

Carvalho JC, Thylstrup A, Ekstrand KR: Results after 3 years of non-operative occlusal caries treatment of erupting permanent first molars. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1992; Aug 20(4):187-92.

Clarkson JJ, McLoughlin J. Role of fluoride in oral health promotion. *Int Dent J.* 2000; 50(3): 119-28.

¹ De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Cury JA, Rebelo MAB, Del Bel Cury AA, Derbyshire MTVC, Tabchoury CPM. Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res.* 2000; 34:491-7.

Cury JA. Dentifrícios: Como escolher e como indicar. *In: Cardoso RJC & Gonçalves EAN. Odontologia - Odontopediatria e Prevenção.* v. 4. São Paulo: Artes Médicas, 2002. p. 281-295.

Ekstrand KR, Ricketts DNJ, Kidd EAM, Qvist E, Schou S. Detection, diagnosing, monitoring and logical treatment of occlusal caries in relation to lesion activity and severity: An in vivo examination with histological validation. *Caries Res* 1993; 32:247-254.

Esteves-Oliveira M, Apel C, Gutknecht N, Velloso WF, Cotrim MEB, Eduardo CP, Zezell DM. Low-fluence CO₂ laser irradiation decreases enamel solubility. *Laser Physics.* 2008; 18(4): 478-85.

Featherstone JDB, Zhang SH, Shariati M, McCormack SM. Carbon dioxide laser effects on caries-like lesions of dental enamel. *Laser in Orthop Dent Vet Med SPIE.* 1991; 1424:145-9.

Featherstone JDB, Barrett-Vespone NA, Fried D, Kantorowitz Z, Seka W. CO₂ laser inhibition of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J Dent Res.* 1998; 77(6): 1397-403.

Featherstone JDB. Effect of carbon dioxide laser treatment on lesion progression in an intra-oral model. *Laser in Dent SPIE VII.* 2001; 4249: 87-91.

Feigal R.J. The use of pit and fissure sealants. *Pediatr Dent.* 2002; 24: 415-22.

Fox JL, Yu D, Otsuka M, Higuchi WI, Wong J, Powell G. Combined effects of laser irradiation and chemical inhibitors on the dissolution of dental enamel. *Caries Res.* 1992; 26(5): 333-9.

Frazão P. Emergence of the first permanent molar in 5-6-year-old children: implications from a longitudinal analysis for occlusal caries prevention. *Rev Bras Epidemiol.* 2011 Jun;14(2):338-346.

Grande, R. H. M. et al. Clinical evaluation of an adhesive used as a fissure sealant. *Am. J. Dent.* 2000;13:167-170.

Hannigan A, O'Mullane DM, Barry D, Schafer F, Roberts AJ. A caries susceptibility classification of tooth surfaces by survival time. *Caries Res* 1998; 34:103-08.

Heyduck, C.; Meller C., C. Schwahn, C.H. Splieth. Effectiveness of Sealants in Adolescents with High and Low Caries Experience *Caries Res.* 2006; v.40, n.4, p.375-381.

Holmen L, Thylstrup A, Ogaard B, Kragh F. A polarized light microscopic study of progressive stages of enamel caries in vivo. *Caries Res* 1985; 19(4):348-54.

Hsu J, Fox JL, Wang Z, Powell GL, Otsuka M, Higuchi WI. Combined effects of laser irradiation/solution fluoride ion on enamel demineralization. *J Clin Laser Med Surg*. 1998; 16(2): 93-105.

Hsu CYS, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Laser-matrix-fluoride effects on enamel demineralization. *J Dent Res*. 2001; 80(9): 1797-801.

Jacobsson B, Koch G, Magnusson T, Hugoson A. Oral health in young individuals with foreign and Swedish backgrounds - a ten-year perspective. *Eur Arch Pediatr Dent*. 2011; Jun 12(3):152-9.

Kantorowitz Z, Featherstone JDB, Fried D. Caries prevention by CO₂ laser treatment: dependency on the number of pulses used. *J Am Dent Assoc*. 1998; 129(5): 585-91.

Kato J, Moriya K, JAYawardena J A, Wijeyeweera R L, Awazu K. Prevention of Dental Caries in Partially Erupted Permanent Teeth with a CO₂ Laser. *J Clin Laser Med & Surg*, 2003; 21(6),369-375.

Kaste LM, Selwitz RH, Oldakowski RJ, Brunelle JA, Winn DM, Brown LJ. Coronal caries in the primary and permanent dentition of children and adolescents 1-17 years of age: United States, 1988-1991. *J Dent Res*. 1996; 75 (Spec No): 631-41.

Klein ALL, Rodrigues LKA, Eduardo CP, Nobre dos Santos M, Cury JA.. Caries inhibition around composite restorations by pulsed carbon dioxide laser application *Eur J Oral Sci*. 2005; 113(3): 239-44.

Konig KG, Dental morphology in relation to caries resistance with special reference to fissures as susceptible areas. *J. Dent. Res*. 1963; 42, pp.461-476.

Kuroda S, Fowler BO. Compositional, structural, and phase changes in *in vitro* laser-irradiated human tooth enamel. *Calcif Tissue Int*. 1984; 36(4): 361-9.

Lynch RJ, Navada R, Walia R. Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes. *Int Dent J*. 2004; 54(5 Suppl 1): 304-309.

Lippert F, Butler A, Lynch RJ. Enamel Demineralization and remineralization under Plaque Fluid-Like Conditions: A Quantitative Light-Induced Fluorescence Study. *Caries Res.* 2011; 45(2):155-61. Epub 2011 Mar 31

Locker D, Jokovic A, Kay EJ. Prevention. Part 8: The use of pit and fissure sealants in preventing caries in the permanent dentition of children. *Br Dent J.* 2003 Oct 11;195(7):375-8.

Macek MD, Beltrán-Aguilar ED, Lockwood SA, Malvitz DM. Update comparison of the caries susceptibility of various morphological types of permanent teeth. *J Publ Health Dent* 2003;63:174-182.

Marthaler TM. Successes and drawbacks in the caries-preventive use of fluorides-lessons to be learnt from history. *Oral Health Prev Dent.* 2003; 1(2): 129-140.

Mc Cormack SM, Fried D, Featherstone JDB, Glena RE, Seka W. Scanning electron microscope observations of CO₂ laser effects on dental enamel. *J Dent Res.* 1995; 74(10): 1702-8.

Messer LB. Assessing caries risk in children. *Aust Dent J.* 2000; 45(1): 10-6.

Meurman JH, Hemmerlé J, Voegel JC, Rauhamaa-Mäkinen R, Luomanen M. Transformation of hydroxyapatite to fluorapatite by irradiation with high-energy CO₂ laser. *Caries Res.* 1997; 31(5): 397-400.

Ministério da Saúde. Brasil Sorridente- A saúde bucal sendo levada a sério. Ministério da Saúde, 2010. Acessado em 28 de janeiro de 2011. Disponível no site www.saude.gov.br

Narvai PC, Frazão P, Roncalli AG, Antunes JLF. Cárie dentária no Brasil: declínio, iniquidade e exclusão social. *Rev Panam Salud Publica.* 2006; 19(6):385-93.

Nelson DGA, Shariati M, Glena R, Shields CP, Featherstone JDB. Effect of pulsed low energy infrared laser irradiation on artificial caries-like lesion formation. *Caries Res.* 1986; 20(4): 289-99.

Nobre dos Santos M, Featherstone JDB, Fried D. Effect of a new carbon dioxide laser and fluoride on sound and demineralized enamel. *Lasers in Dent VII. SPIE* 2001; 4249: 169-74.

Nobre dos Santos M, Melo dos Santos L, Francisco SB, Cury JA. Relationship among dental plaque composition, daily sugar exposure and caries in the primary dentition. *Caries Res* 2002; 36:347-52.

Paes Leme AF, R Dalcico, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA. In situ effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use. *J of Dental Res.* jan 2004; 83(1): 71-5.

Pearce E, Larsen M, Coote G. Fluoride in enamel lining pits and fissures of the occlusal groove-fossa system in human molar teeth . *Caries Res.* 1999; 33(3): 196-105.

Pecharki GD, Cury JA, Paes Leme AF, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Bowen, WH. Effect of Sucrose Containing Iron (II) on Dental Biofilm and Enamel Demineralization in situ. *Caries Res.* 2005; 39:123-129.

Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ* 2005; 83:661-9.

Rechmann P, Hsu T, Rechmann BMT, Le CQ, Featherstone JD. In-vivo Occlusal Caries Prevention by Pulsed CO₂-Laser Treatment. *IADR* 2011.

Ripa LW, Leske GS, Varma AO. Longitudinal study of the caries susceptibility of occlusal and proximal surfaces of first permanent molars. *J Public Health Dent.* 1988; Winter, 48(1): 8-13.

Rodrigues L K A, Nobre dos Santos, M Pereira D, Assaf, A V Pardi .Carbon dioxide laser in dental caries prevention.*Journal of Dentistry.* 2004; 32(7), 531-540.

Rodrigues LK, Nobre dos Santos M, Featherstone JD. In situ mineral loss inhibition by CO₂ laser and fluoride. *J Dent Res.* 2006; july; 85(7):617-21.

Robinson C, Kirkham J, Baverstock AC, Shore RC A flexible and rapid pH cycling procedure for investigations into the remineralisation and demineralisation behaviour of human enamel *Caries Res.* 1992; 26(1):14-7.

Rohr M, Makinson OF, Burrow MF Pits and fissures: morphology. *ASDC J Dent Child.* 1991; Mar-Apr;58(2):97-103.

Seppä L. The future of preventive programs in countries with different systems for dental care. *Caries Res.* 2001; 35(Suppl 1): 26-9.

Simonsen RJ, Neal RC. A review of the clinical application and performance of pit and fissure sealants. *Aust Dent J.* 2011; Jun; 56 Suppl 1:45-58.

Steiner-Oliveira C, Rodrigues LK, Soares LE, Martin AA, Zezell DM, Nobre-dos-Santos M. Chemical, morphological and thermal effects of 10.6-microm CO₂ laser on the inhibition of enamel demineralization. *Dent Mater J.* 2006a; 25(3):455-62.

Steiner-Oliveira C, Rodrigues LK, Nobre-dos-Santos M. O Emprego do Laser de Co2 no controle da Cárie Dentária. Rev. Odonto Ciênc. 2007;Porto Alegre, v. 22, n. 58, p. 346-351, out./dez..

Steiner-Oliveira C, Rodrigues LKA, Lima EB, Nobre dos Santos M. Effect of the CO2 Laser Combined with Fluoridated Products on the Inhibition of Enamel Demineralization. J Contemp Dent Pract 2008; February; (9)2:113-121.

Sousa RP, Zanin ICJ, Lima JPM, Vasconcelos SMLC, Melo MAS, Beltrão HCP, Rodrigues LKA. In situ effects of restorative materials on dental biofilm and enamel demineralization. Journal of Dentistry. 2008, 1305; 8.

Tagliaferro EP, Rodrigues LK, Nobre Dos Santos M, Soares LE, Martin AA. Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralization primary enamel: an in vitro study. Caries Res. 2007; 41: 74-6.

Tepper SA, Zehnder M, Pajarola GF, Schmidlin PR. Increased fluoride uptake and acid resistance by CO₂ laser-irradiation through topically applied fluoride on human enamel *in vitro*. J Dent 2004; 32:635-41.

Tsai CL, Lin YT, Huang ST, Chang HW. *In vitro* acid resistance of CO₂ and Nd-YAG laser-treated human tooth enamel. Caries Res. 2002; 36(6): 423-9.

Wefel JS, Harless J. Comparison of artificial white spots by microradiography and polarized light microscopy. J Dent Res 1984; 63:1271-75.

ANEXO I

INFORMAÇÃO CCPG/OO2/06⁶

Tendo em vista a necessidade de revisão da regulamentação das normas sobre o formato e a impressão das dissertações de mestrado e teses de doutorado e com base no entendimento exarado no Parecer PG n° 1985/96, que trata da possibilidade do formato alternativo ao já estabelecido, a CCPG resolve:

Artigo 1º - O formato padrão das dissertações e teses de mestrado e doutorado da UNICAMP deverão obrigatoriamente conter:

- I. Capa com formato único ou em formato alternativo que deverá conter informações relativas ao nível (mestrado ou doutorado) e à Unidade de defesa, fazendo referência à Universidade Estadual de Campinas, sendo o projeto gráfico das capas definido pela PRPG.
- II. Primeira folha interna dando visibilidade à Universidade, a Unidade de defesa, ao nome do autor, ao título do trabalho, ao número de volumes (quando houver mais de um), ao nível (mestrado ou doutorado), a área de concentração, ao nome do orientador e co-orientador, ao local (cidade) e ao ano de depósito. No seu verso deve constar a ficha catalográfica.
- III. Folha de aprovação, dando visibilidade à Comissão Julgadora com as respectivas assinaturas.
- IV. Resumo em português e em inglês (ambos com no máximo 500 palavras).
- V. Sumário.
- VI. Corpo da dissertação ou tese dividido em tópicos estruturados de modo característico à área de conhecimento.
- VII. Referências, formatadas segundo normas de referenciamento definidas pela CPG da Unidade ou por critério do orientador.
- VIII. Todas as páginas deverão, obrigatoriamente, ser numeradas, inclusive páginas iniciais, divisões de capítulos, encartes, anexos, etc... As páginas iniciais poderão ser numeradas utilizando-se algarismos romanos em sua forma minúscula.
- IX. Todas as páginas com numeração "ímpar" serão impressas como "frente" e todas as páginas com numeração "par" serão impressas como "verso".

§ 1º - A critério do autor e do orientador poderão ser incluídos: dedicatória; agradecimento; epígrafe; lista de: ilustrações, tabelas, abreviaturas e siglas, símbolos; glossário; apêndice; anexos.

§ 2º - A dissertação ou tese deverá ser apresentada na língua portuguesa, com exceção da possibilidade permitida no artigo 2º desta Informação.

§ 3º - As dissertações e teses cujo conteúdo versar sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou biossegurança, deverão apresentar anexos os respectivos documentos de aprovação.

Artigo 2º - A critério do orientador e com aprovação da CPG da Unidade, os capítulos e os apêndices poderão conter cópias de artigos de autoria ou de co-autoria do candidato, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§ único - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

Artigo 3º - Dependendo da área do conhecimento, a critério do orientador e com aprovação da CPG da Unidade, a dissertação ou tese poderá ser apresentada em formato alternativo, desde que observados os incisos I, II, III IV, V e VII do artigo 1º.

Artigo 4º - Para impressão, na gráfica da Unicamp, dos exemplares definitivos de dissertações e teses defendidas, deverão ser adotados os seguintes procedimentos:

§ 1º - A solicitação para impressão dos exemplares de dissertações e teses poderá ser encaminhada à gráfica da Unicamp pelas Unidades, que se responsabilizarão pelo pagamento correspondente.

§ 2º - Um original da dissertação ou tese, em versão definitiva, impresso em folha tamanho carta, em uma só face, deve ser encaminhado à gráfica da Unicamp acompanhado do formulário "Requisição de Serviços Gráficos", onde conste o número de exemplares solicitados.

§ 3º - A gráfica da Unicamp imprimirá os exemplares solicitados com capa padrão. Os exemplares solicitados serão encaminhados à Unidade em, no máximo, cinco dias úteis.

§ 4º - No formulário "Requisição de Serviços Gráficos" deverão estar indicadas as páginas cuja reprodução deva ser feita no padrão "cores" ou "foto", ficando entendido que as demais páginas devam ser reproduzidas no padrão preto/branco comum.

§ 5º - As dissertações e teses serão reproduzidas no padrão frente e verso, exceção feita às páginas iniciais e divisões de capítulos; dissertações e teses com até 100 páginas serão reproduzidas no padrão apenas frente, exceção feita à página que contém a ficha catalográfica.

§ 6º - As páginas fornecidas para inserção deverão ser impressas em sua forma definitiva, ou seja, apenas frente ou frente/verso.

§ 7º - O custo, em reais, de cada exemplar produzido pela gráfica será definido pela Administração Superior da Universidade.

Artigo 5º - É obrigatória a entrega de dois exemplares para homologação.

Artigo 6º - Esta Informação entrará em vigor na data de sua publicação, ficando revogadas as disposições em contrário, principalmente as Informações CCPG 001 e 002/98 e CCPG/001/00.

Campinas, 13 de setembro de 2006

Profa. Dra. Teresa Dib Zambon Atvars
Presidente
Comissão Central de Pós-Graduação



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "**Efeito do laser de CO2 e do dentifírcio fluoretado na prevenção de cárie de superfície oclusal - Um estudo in situ**", protocolo nº 092/2008, dos pesquisadores Maria Eliana Cruz de Almeida e Marinês Nobre dos Santos Uchôa, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 12/09/2008.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "**Effects of CO2 laser and fluoridated dentifrice in caries prevention of occlusal surface - An in situ study**", register number 092/2008, of Maria Eliana Cruz de Almeida and Marinês Nobre dos Santos Uchôa, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 09/12/2008.



Prof. Dr. Pablo Agustim Vargas
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP



Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

ANEXO III



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



Responsáveis pela pesquisa: Maria Eliana Cruz de Almeida e Profa. Dra. Marinês Nobre dos Santos Uchôa. A primeira pesquisadora é quem fará o convite da participação na pesquisa aos voluntários e posteriormente a apresentação do TCLE a esses voluntários.

Título da Pesquisa: "EFEITO DO LASER DE CO₂ E DO DENTIFRÍCIO FLUORETADO NA PREVENÇÃO DE CÁRIE DE SUPERFÍCIE OCLUSAL – UM ESTUDO *IN SITU* "

Objetivo da Pesquisa: Determinar *in situ* os efeitos do laser de CO₂ ($\lambda = 10,6 \mu\text{m}$) associado ao dentifrício fluoretado na inibição da desmineralização do esmalte de superfície oclusal.

Justificativa: O declínio na prevalência de cárie tem sido acompanhado por uma alteração no padrão de cárie com um aumento de sua prevalência na superfície oclusal quando comparada às superfícies lisas (MEIERS & JENSEN, 1984). Esta observação chama a atenção para a necessidade de se aperfeiçoar os métodos tradicionais empregados na prevenção e no controle da cárie dental, como também introduzir terapias inovadoras, que sejam mais efetivas na prevenção da cárie de superfície oclusal (SU). Neste contexto, a aplicação do laser de CO₂ no esmalte dental humano, resulta em um aumento de sua resistência à desmineralização ácida e na inibição da progressão da lesão de cárie. Além disto, sabe-se que quando associado ao flúor a laser de CO₂ tem o seu efeito potencializado. No entanto, a análise da literatura evidencia que não foram realizados estudos com o objetivo de avaliar *in situ* os efeitos do laser de CO₂ no esmalte de superfície oclusal em condições que realmente representassem a dinâmica do meio ambiente bucal frente a um alto desafio cariogênico,

Procedimentos: Esta pesquisa será executada em duas fases, durante as quais 16 voluntários, de 20 a 33 anos, usarão dispositivos palatinos acrílicos que conterão dois espécimes de esmalte dental humano. Os voluntários serão selecionados aleatoriamente e os que fizerem parte dos grupos "controle" e "laser" na primeira fase receberão os grupos "Dentifrício fluoretado" e "laser+Dentifrício fluoretado" na segunda fase, e vice-versa. Em cada fase cada espécime receberá um dos seguintes tratamentos:

- ✓ dentifrício não fluoretado (Grupo Controle),
- ✓ irradiação com laser de CO₂ mais dentifrício não fluoretado (Grupo laser),
- ✓ dentifrício fluoretado (Grupo dentifrício fluoretado),
- ✓ irradiação com laser de CO₂ mais dentifrício fluoretado (Grupo laser+dentifrício fluoretado).

Instruções de uso:

- a) Todos os blocos de esmalte contidos no dispositivo deverão ser gotejados com a solução de sacarose a 20% oito vezes ao dia respeitando um horário pré-determinado pelo pesquisador e após 5 min colocar o dispositivo na boca sem lavar;
- b) Utilizar o dispositivo intra-oral palatino diariamente, inclusive para dormir;
- c) Remover o dispositivo intra-oral durante as refeições ou ingestão de qualquer bebida ácida, porém conservando-o no estojo fornecido e em ambiente úmido com o objetivo de manter as bactérias da placa viáveis;
- d) Durante a escovação o dispositivo deverá ser removido e os voluntários deverão limpar seus aparelhos cuidadosamente para evitar a remoção do biofilme dentário formado sobre os blocos, fazendo uso de dentifrício fluoretado.
- e) Os voluntários não deverão alterar seus hábitos alimentares.

Desconfortos, Riscos e Benefícios: Você poderá sentir algum desconforto (exemplo: náusea) quando da moldagem para confecção dos aparelhos intra-buciais. Isto poderá ser controlado à medida que será

empregada técnica correta de espatulação do material de moldagem evitando, assim, qualquer episódio desconfortável. Também poderá apresentar discreta halitose durante o período experimental, o que poderá ser resolvido com adequada higiene dentária. O uso das soluções será apenas como gotas sobre os blocos de esmalte presentes nos dispositivos intra-orais, não implicando em qualquer aumento de cárie dentária nos voluntários. O dispositivo intra-oral pode causar um leve desconforto, que é, entretanto, semelhante ao desconforto causado por um aparelho ortodôntico móvel. Durante todo o período da pesquisa, acompanhamentos semanais serão realizados, para verificar as condições do aparelho e da sua saúde bucal. Cabe ressaltar que não haverá consumo direto da substância, pois a mesma será gotejada sobre os blocos de esmalte.

Não há benefício direto a você. Você irá contribuir para a realização deste projeto e adquirir conhecimento sobre a efetividade do laser de CO₂ na inibição da desmineralização do esmalte da superfície oclusal *in situ*. Este conhecimento poderá ser utilizado futuramente em prol da população de alto risco à cárie.

Forma de acompanhamento e assistência: Os pesquisadores envolvidos na pesquisa estarão à disposição para ajuste do aparelho intra-oral a fim de minimizar qualquer desconforto. Caso haja alguma dificuldade para higienização tanto bucal como do aparelho intra-bucal, estaremos a disposição para esclarecer quaisquer dúvidas ou mesmo execução de algum procedimento preventivo.

Garantia de esclarecimento : *Você tem garantia de que receberá resposta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados à pesquisa. Também os pesquisadores supracitados assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo na continuação de sua participação. Qualquer dúvida ou problema com o dispositivo intra-oral, por favor, comunicar-nos com a maior brevidade possível. Tel: (92) 8414-9117 (92) 3584-1565 (Profa Maria Eliana Almeida)*

Formas de ressarcimento: Você será ressarcido das eventuais despesas com o transporte e alimentação pela participação na pesquisa.

Formas de indenização: Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa, portanto não há previsão de indenização.

Garantia de sigilo: Os pesquisadores asseguram a sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

Liberdade para se recusar em participar da pesquisa: A decisão de fazer parte desta pesquisa é voluntária. Você pode escolher se quer ou não participar, assim como poderá desistir de participar a qualquer momento, sem qualquer punição ou prejuízo, inclusive do ponto de vista acadêmico.

Haverá duas cópias desse termo de consentimento, sendo uma do pesquisador e outra do voluntário.

SUA ASSINATURA INDICA QUE VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DA PESQUISA COMO VOLUNTÁRIO E QUE LEU E ENTENDEU TODAS AS INFORMAÇÕES ACIMA EXPLICADAS.

Nome do voluntário	Assinatura do voluntário	RG
--------------------	--------------------------	----

Atenção: a sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos escreva para o comitê de ética em pesquisa da FOP-UNICAMP.
Endereço: Av Limeira, 901 CEP – FOP, CEP 13.414-903 Piracicaba, SP
Email: cep@fop.unicamp.br; website: <http://www.fop.unicamp.br/cep/index.htm> Tel/Fax-CEP (0xx19) 2106-5349

ANEXO IV

Equipamentos utilizados na Pesquisa



Figura1: Laser de CO₂ Union Medical Engineering Co. Model UM-L30, Yangju-si, Gyeonggi-Do, Korea)

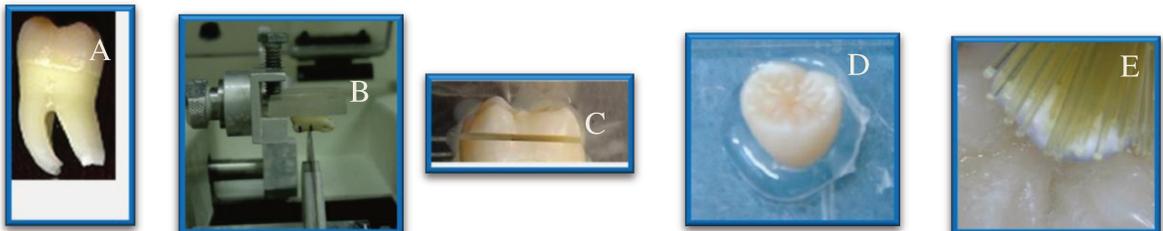


Figura 2: Preparo dos Espécimes: (2A), Cortadeira com disco diamantado dupla face (2B); cortes para obtenção dos espécimes (2C,2D) e polimento da superfície oclusal (2E).

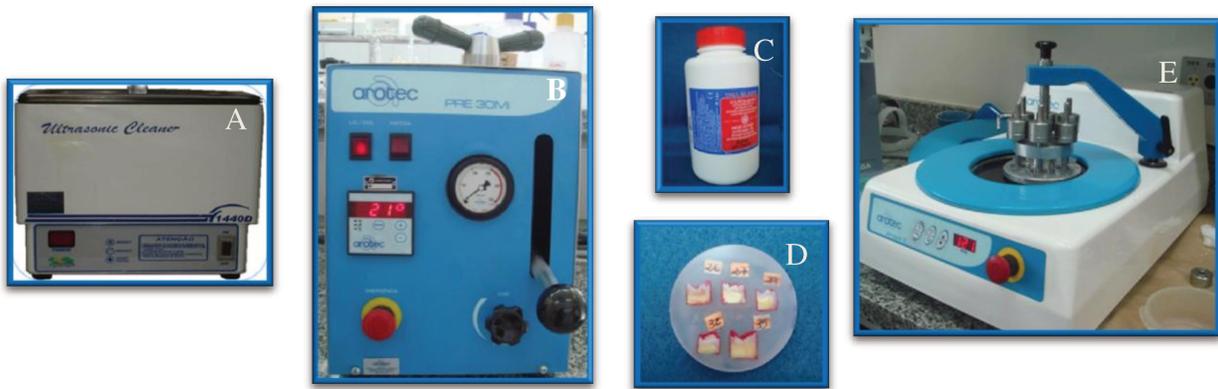


Figura 3: Cuba ultrassônica (3A); Embutidora PRE30Mi AROTEC (3B) Polidora BUEHLER-ISOMET (3E)



Figura 4: Confeção dos dispositivos intra oral.



Figura 5: Microdurômetro Future Tech FM 9000-ARS



Figura 6: Microscópio Eletrônico de varredura-MEV JEOL JSM-5600 LV (JEOL, Tokyo, Japan)



Figura 7: Microscópio de luz polarizada Leica DMLP (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) acoplado a um sistema digital Leica FFC 280 para obtenção de fotomicrografias com uma ampliação padrão de 5x.