



LÍVIA PAGOTTO RODRIGUES

**“EFEITO DO LASER DE CO₂ E DO DENTIFRÍCIO FLUORETADO
NA DESMINERALIZAÇÃO AO REDOR DE BRÁQUETES
ORTODÔNTICOS COLADOS COM ADESIVO - ESTUDO *IN SITU*”**

**PIRACICABA
2013**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

LÍVIA PAGOTTO RODRIGUES

**“EFEITO DO LASER DE CO₂ E DO DENTIFRÍCIO FLUORETADO
NA DESMINERALIZAÇÃO AO REDOR DE BRÁQUETES
ORTODÔNTICOS COLADOS COM ADESIVO - ESTUDO *IN SITU*”**

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

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de Campinas para a
obtenção do título de Mestra em Odontologia -
Área de concentração em Odontopediatria.

Este exemplar corresponde à versão final da
Dissertação defendida pela aluna, e orientado
pela Prof.^a Dr.^a Marinês Nobre dos Santos Uchôa.

Assinatura da Orientadora

PIRACICABA
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

R618e Rodrigues, Livia Pagotto, 1986-
Efeito do laser de CO2 e do dentifrício fluoretado na
desmineralização ao redor de bráquetes ortodônticos colados
com adesivo – estudo in situ / Livia Pagotto Rodrigues. --
Piracicaba, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Marinês Nobre dos Santos Uchôa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Fluoretos. 2. Esmalte. I. Nobre dos Santos,
Marinês, 1956- II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: Effect of CO2 laser and fluoride dentifrice on
demineralization around orthodontic brackets bonded with an adhesive – an
in situ study

Palavras-chave em Inglês:

Fluoride
Enamel

Área de concentração: Odontopediatria

Titulação: Mestra em Odontologia

Banca examinadora:

Marinês Nobre dos Santos Uchôa [Orientador]

Juliano Pelim Pessan
Érico Barbosa Lima

Data da defesa: 28-02-2013

Programa de Pós-Graduação: Odontologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 28 de Fevereiro de 2013, considerou a candidata LÍVIA PAGOTTO RODRIGUES aprovada.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Marines Nobre dos Santos Uchoa", written over a horizontal line.

Profa. Dra. MARINES NOBRE DOS SANTOS UCHOA

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Juliano Pelim Pessan", written over a horizontal line.

Prof. Dr. JULIANO PELIM PESSAN

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Erico Barbosa Lima", written over a horizontal line.

Prof. Dr. ÉRICO BARBOSA LIMA

DEDICATÓRIA

A Deus,

E à Espiritualidade Amiga, presenças constantes em minha vida. Nos momentos de felicidade, aprendizado e aflições, sempre me conduzindo no caminho do Bem e da evolução constante. Sempre me intuindo a continuar nesta jornada, por mais difícil que tenha sido. A Eles, meu eterno agradecimento...

Aos grandes amores da minha vida: José Antônio, Ana Rúbia, Leonardo e Guilherme.

Preciosidades com as quais convivo. Sem eles eu nada seria. Grandes exemplos de honestidade e caráter. Amores que me enchem de alegria e de momentos de felicidade. Nem sempre por perto, mas sempre presentes em cada momento de minha vida. Amo vocês e sou eternamente agradecida por ter sido abençoada com essa família maravilhosa.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Profa. Dra. Marinês Nobre dos Santos Uchôa**, que mais do que minha orientadora, foi e ainda é para mim exemplo de dedicação constante à profissão e à família. Profissional de extrema competência que me ensinou a trilhar os meus primeiros passos na vida acadêmica.

A ela, o meu sincero agradecimento e carinho pela paciência e dedicação durante esta jornada de trabalho, confiando que eu seria capaz.

À **Profa. Dra. Cíntia Machado Tabchoury**, pela paciência e auxílio durante as análises laboratoriais. Também, pelo carinho e respeito que sempre teve comigo e com os demais colegas da pós-graduação.

À **Profa. Dra. Lidiany Karla Azevedo**, pelo auxílio, disponibilidade e ensinamentos durante a execução deste trabalho.

Às demais colaboradoras deste trabalho, **Carolina Steiner-Oliveira e Thaís Manzano Parisotto**, pelo apoio durante as análises e principalmente, pela disponibilidade em me ajudar, mesmo em meio a inúmeros compromissos.

À amiga da pós-graduação e “irmã”, **Fabiana Furtado Freitas**, pela grande e eterna amizade. Presente nos momentos de alegria e de dificuldades, sempre me ajudando durante os experimentos e por ser a minha família nos momentos longe de casa.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do seu Magnífico Reitor **Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa**; à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do seu Diretor **Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior** e Diretor Associado **Dr. Alexandre Augusto Zaia**. À **Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, Presidente da Comissão de Pós Graduação, FOP/UNICAMP; à **Profa. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, FOP/UNICAMP.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela concessão da bolsa de Mestrado para a execução deste trabalho.

À **Profa. Dra. Fernanda Miori Pascon**, **Profa. Dra. Maria Beatriz Duarte Gavião**, **Profa. Dra. Regina Maria Puppim Rontani** e **Prof. Dr. Érico Barbosa Lima**, pela dedicação e ensinamentos em Odontopediatria. Exemplos de competência e seriedade com o ensino.

Aos professores da Área de Ortodontia, **Prof. Dr. João Sarmento Pereira Neto**, **Profa. Dra. Maria Beatriz Borges Araújo Magnani** e **Profa. Dra. Vânia Célia Vieira de Siqueira**, pela oportunidade de integração entre as áreas.

Às professoras membros da banca do exame de Pré-qualificação, **Profa. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury** e **Profa. Dra. Regina Maria Puppim Rontani**, pelas sugestões para a realização deste trabalho. Às professoras membros da banca do exame de Qualificação, **Profa. Dra. Regina Maria Puppim Rontani**, **Profa. Dra. Beatriz Magnani Borges Araújo** e **Profa. Dra. Fabiana Scarparo Naufel**. Também, aos professores membros da banca da defesa, **Profa. Marinês Nobre dos Santos Uchôa**, **Prof. Dr. Juliano Pelim Pessan** e **Prof. Dr. Érico Barbosa Lima** e suplentes **Profa. Dra. Fernanda Miori Pascon** e **Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio**, aos quais eu agradeço desde já pela disponibilidade em ler e sugerir modificações à dissertação.

Ao amigo e técnico do Laboratório de Odontopediatria, **Marcelo Corrêa Maistro** pela ajuda durante as fases laboratoriais e pelo incentivo e paciência durante as mesmas.

Às secretárias da pós-graduação, pela atenção e apoio durante as fases administrativas.

Ao **Comitê de Ética em Pesquisa** da FOP-UNICAMP, pela disponibilidade em avaliar o projeto, preocupando-se com os aspectos éticos envolvendo os voluntários.

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, Union Medical UM-L30.

Ao **Centro de Energia Nuclear na Agricultura**, da **Universidade de São Paulo**, pela utilização do **Laboratório de Melhoramento de Plantas** (utilização da radiação gama) e ao técnico **Sr. Paulo Cassiere Neto**, sempre gentil comigo.

Aos amigos e companheiros de Mestrado e Doutorado em Odontopediatria **Ana Bheatriz Marangoni Montes, Fernanda Yukie Kobayashi, Maria Carolina Salomé Marquezin, Luciana Tiemi Inagaki, Thayse Rodrigues, Vanessa Benetello, Larissa Ferreira Pacheco, Éfani Caroline de Freitas Banzi, Marcela Pinto Monteiro de Oliveira, Marina Severi Leme, Darlle Santos Araújo, Juliana Neide Amato, Lenita M. Lopes, Luiz Filipe B. Martins, Maribel H. Mamani, Micaela Cardoso, Natália M. Joaquim, Thaís Varanda** e em especial às companheiras **Ariany Borges Carvalho, Alexsandra Shizue Iwamoto, Bruna Raquel Zancopé e Fabiana Furtado Freitas**, por toda ajuda durante o experimento e aos demais, pelos agradáveis momentos em aulas, viagens e congressos.

Aos amigos e companheiros das outras áreas com quem convivi, em especial à amiga **Bárbara de Lima Lucas**, a quem agradeço pela companhia, incentivo e ensinamentos diante de alguns obstáculos que vivenciamos; **Aurealice Rosa Martins**, por ter entrado em minha vida, trazendo alegria e motivação constantes; **Cristina Macedo, Cristina Müller, Mariana Agostinho, Maria Fernanda Montans Aranha**, por me darem excelentes conselhos e estarem sempre por perto, sendo ótimas companhias.

Às amigas **Ana Paula Moraes Tremonte, Fabiana Furtado Freitas e Thayse Rodrigues**, que entraram em minha vida de forma inesperada e fizeram com que o ambiente de casa se tornasse mais agradável e harmonioso.

A todos os meus familiares, avós, tios e primos, em especial aos meus padrinhos **Rubiani de Cássia Pagotto**, por ser meu exemplo mais próximo de sucesso profissional na vida acadêmica e **Flávio Aparecido Rodrigues Gumieri**, pelo exemplo de dedicação e conquista de um grande sonho. Também, agradeço a **Fabiana Bizinelli Rodrigues** e **Marilia Duarte Rossini**, por serem tão especiais e terem entrado em minha família, completando-a de modo único.

Aos **voluntários** desta pesquisa, que participaram com dedicação de modo a tornar a realização deste trabalho possível. Vocês foram essenciais para a concretização desta etapa em minha vida.

A todos os **funcionários** da Faculdade de Odontologia de Piracicaba pela colaboração e convivência.

A todos acima citados, direta ou indiretamente, os meus sinceros agradecimentos...

EPÍGRAFE

"Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas, nos auxiliam muito."

Francisco de Paula Cândido Xavier

RESUMO

Este estudo teve como objetivo verificar *in situ* se a irradiação do esmalte com laser de dióxido de carbono (CO₂) com comprimento de onda 10,6 µm e densidade de energia de 20,0 J/cm² associada ao emprego de um adesivo ortodôntico seria capaz de reduzir a perda mineral do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos, submetidos a situação de alto desafio cariogênico. Para isto, 80 dentes terceiros molares humanos retidos, foram cortados, obtendo-se ao final 160 espécimes de 5 x 5 x 2 mm, os quais foram divididos entre os grupos. Durante duas fases de 14 dias cada, 20 voluntários (idade média de 24 anos) utilizaram um dispositivo intraoral palatino contendo quatro espécimes de esmalte dentário humano, que foram aleatoriamente divididos em quatro grupos: (1) Adesivo + Dentifrício não fluoretado (DNF) (Controle), (2) Laser de CO₂ + Adesivo + Dentifrício não fluoretado (DNF), (3) Adesivo + Dentifrício fluoretado (DF) e (4) Laser de CO₂ + Adesivo + Dentifrício fluoretado. Para simular o alto desafio cariogênico os voluntários gotejaram sobre os espécimes dentais, solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia, em horários pré-determinados. Após cada fase, foi coletado o biofilme ao redor dos bráquetes e analisada a concentração de flúor no biofilme seco empregando-se eletrodo específico para íon flúor. A perda mineral do esmalte ao redor dos bráquetes ortodônticos foi avaliada indiretamente pela análise de microdureza. Os resultados da concentração de flúor no biofilme seco foram analisados pelo teste de Lilliefors e teste de Kruskal-Wallis, seguidos do teste de Student Newman-Keuls ($\alpha = 0,05$); e os resultados da perda mineral foram analisados pelo teste de Lilliefors para verificação da normalidade dos dados seguidos do teste ANOVA. A análise da concentração de flúor no biofilme seco mostrou que os grupos 1 e 2 diferiram dos grupos 3 e 4, sendo que nos grupos 3 e 4 a concentração de flúor foi significativamente maior que aquelas observadas nos grupos 1 e 2. Nas condições experimentais empregadas nesta pesquisa, o sistema adesivo mostrou-se efetivo em inibir a desmineralização, *in situ*, ao redor de bráquetes ortodônticos, mediante alto desafio cariogênico. Assim, a presença ou não do laser de CO₂ e do dentifrício fluoretado não teve influência quanto à perda mineral do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos.

Palavras-chave: Desmineralização, Lesão de Mancha Branca, Laser de CO₂, Bráquetes, sistema adesivo.

ABSTRACT

The aim of this study was to verify whether the irradiation of carbon dioxide (CO₂) laser with a wavelength of 10.6 μm and density of 20.0 J/cm² combined with the use of an orthodontic adhesive could reduce enamel demineralization around orthodontic brackets, subjected to a situation of high cariogenic challenge in the oral environment. For this, 80 human third molars retained were cut into 160 specimens of 5 x 5 x 2 mm, which were divided into the groups. During two phases of 14 days each, 20 volunteers (mean age 24 years) used a device intraoral palatal containing four specimens of human enamel, which were randomly divided into 4 groups: 1- Adhesive + Non Fluoride Toothpaste (NFT) (control), 2- CO₂ Laser + Adhesive + Non Fluoride Toothpaste (NFT), 3- Adhesive + Fluoride Toothpaste (FT) and 4- CO₂ Laser + Adhesive + Fluoride toothpaste. To simulate a high cariogenic challenge, volunteers dripped on the slabs a 20% sucrose solution eight times a day at predetermined times. After each phase, the biofilm around the brackets was collected and the fluoride concentration in the dry biofilm was analyzed, using an ion specific electrode. The mineral loss around orthodontic brackets was determined by cross-sectional microhardness measurement. The results of the fluoride concentration in dried biofilm were analyzed by Lilliefors and Kruskal-Wallis test followed by the Student Newman-Keuls test ($\alpha = 0.05$) and the results of the mineral loss were analyzed by Lilliefors test followed by ANOVA. Regarding the fluoride concentration in the dry biofilm, the data showed a significant difference between groups 1 and 2 when compared to groups 3 and 4, and the groups 3 and 4 showed fluoride concentrations in the biofilm higher than those observed for groups 1 and 2. Under the experimental conditions employed in this study, the adhesive system was showed to be effective in reducing demineralization *in situ* around orthodontic brackets in a high cariogenic challenge situation. Thus, the presence or absence of CO₂ laser and fluoride toothpaste showed to have no influence on the enamel mineral loss around orthodontic brackets.

Keywords: Demineralization, White spot lesion, CO₂ laser, Brackets, adhesive system.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	04
3 PROPOSIÇÃO	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
5 RESULTADOS	40
6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	50
APÊNDICES	66
APÊNDICE 1	66
APÊNDICE 2	69
ANEXOS	70
ANEXO 1	70
ANEXO 2	71
ANEXO 3	72

1 INTRODUÇÃO

Um dos maiores problemas de relevância clínica relacionado ao uso de aparelhos ortodônticos é o desenvolvimento de lesões de manchas brancas (Gorelick *et al.*, 1982; Richter *et al.*, 2011; Artun & Brobakken, 1986; Kukleva *et al.*, 2002), as quais ocorrem em aproximadamente 50% dos pacientes sob tratamento ortodôntico (Tufekci *et al.*, 2011). A lesão de mancha branca é considerada a precursora da lesão de cárie cavitada (Darling, 1956; O'Reilly & Featherstone, 1987), podendo também ser considerada um problema estético (Artun & Brobakken, 1986; Rosembloom & Tinanoff, 1991; Featherstone, 2003) e tem sido atribuída ao acúmulo prolongado e retenção do biofilme dental na superfície de esmalte adjacente ao aparelho fixo (Zachrisson & Zachrisson, 1971).

Øgaard (1989) identificou que, após cinco anos de tratamento ortodôntico, os pacientes apresentavam incidência de opacidades no esmalte significativamente maior do que pacientes que não haviam sido submetidos ao tratamento ortodôntico. Dispositivos ortodônticos fixos dificultam a higienização em superfícies que geralmente apresentam uma baixa prevalência de cárie dental (Mitchell, 1992). Os dispositivos criam novas áreas de retenção para a formação de biofilme, cujo acúmulo, na presença de açúcares da dieta poderia resultar em um aumento do número e porcentagem de espécies cariogênicas, como *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* (Mizrahi, 1982; Gorelick *et al.*, 1982; O'Reilly & Featherstone, 1987). O aumento da população de bactérias cariogênicas pode levar a uma queda no pH que altera o balanço do equilíbrio dos processos de desmineralização-rem mineralização, levando assim, à perda de mineral, que pode acarretar no desenvolvimento de manchas brancas e, eventualmente, cavitação.

Prevenir a formação das lesões de mancha branca decorrentes do tratamento ortodôntico tem sido uma preocupação constante do ortodontista. Neste sentido, a formação de biofilme ao redor de dispositivos ortodônticos deve ser controlada, e concentrações constantes de flúor deveriam ser mantidas na cavidade bucal (Cury, 1992). Os clínicos têm proposto tratamentos a base de fluoretos, e uso de materiais que liberem flúor logo no início do tratamento ortodôntico. As terapias com flúor que combinam dentifrícios e bochechos fluoretados, bem como aplicação tópica de flúor, têm se mostrado eficazes em prevenir ou

reduzir as lesões de manchas brancas em pacientes com aparelho ortodôntico (Nalbantgil *et al.*, 2013; Benson *et al.*, 2005; Cohen *et al.*, 2003). No entanto, esse é um tratamento que apresenta baixo índice de cooperação por parte dos pacientes, o que compromete sua efetividade (Geiger *et al.*, 1992; Shannon, 1981). Adicionalmente, as recomendações aos pacientes devem incluir instrução de higiene bucal, reforço e controle da mesma, sempre que possível (Sudjalim *et al.*, 2007).

Clinicamente, as lesões de manchas brancas com profundidade de 75 µm podem ser desenvolvidas no período de apenas quatro semanas, o que implica dizer que a aplicação tópica de flúor deve ser mantida durante todo o tratamento, porém normalmente isso não ocorre na clínica (Øgaard, 1989). Assim, os fabricantes incorporaram flúor aos materiais de colagem ortodôntica com o objetivo de ajudar a prevenir a desmineralização do esmalte dental ao redor dos bráquetes (Banks *et al.*, 1997; Vorhies *et al.*, 1998). Outra terapia amplamente empregada em pacientes com aparelho ortodôntico tem sido os bochechos com soluções de fluoreto de sódio. No entanto, além de depender da colaboração do paciente, o efeito do flúor é parcial já que o mesmo não consegue impedir completamente o desenvolvimento das lesões de cárie (Geiger *et al.*, 1992).

Durante o procedimento de colagem dos bráquetes ortodônticos emprega-se a técnica do condicionamento ácido do esmalte e posterior aplicação do sistema adesivo. Relatos na literatura têm sugerido que o sistema adesivo possui efeito protetor da redução da desmineralização do esmalte, quando associado a algum componente com capacidade de inibir tal processo de desmineralização, como agentes antimicrobianos e flúor (Zanarini *et al.*, 2012; Pinto *et al.*, 2010, McNeill *et al.*, 2001). Além da proteção física deste esmalte que seria proporcionada pelo adesivo, outra estratégia que poderia ser empregada para tornar o esmalte ao redor do bráquete ortodôntico mais resistente à desmineralização seria a modificação química e/ou morfológica da estrutura do esmalte previamente à colocação do aparelho ortodôntico, por meio da irradiação da mesma com laser de CO₂.

O efeito do laser na redução da desmineralização do esmalte dental tem sido evidenciado de forma que vários estudos têm mostrado que os lasers de CO₂ podem ser usados para modificar a composição química e/ou a morfologia da superfície do esmalte dentário, podendo inibir o desenvolvimento e a progressão de lesões de cárie tanto *in vitro*

(Nelson *et al.*, 1986, 1987; Featherstone *et al.*, 1998; Kantorowitz *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000, 2001; Nobre dos Santos *et al.*, 2001, 2002; Tepper *et al.*, 2004; Klein *et al.*, 2005) como *in situ* (Rodrigues *et al.*, 2006).

Segundo Featherstone (2000), os comprimentos de onda do laser de CO₂ mais indicados na prevenção de cárie são 9,3 µm e 9,6 µm, com duração de pulso de 100 µs ou menos. No entanto, até o momento, não existem aparelhos de laser comerciais disponíveis que possam produzir tais condições, de modo que as pesquisas realizadas com estes parâmetros utilizaram protótipos (Featherstone *et al.*, 1998; Young *et al.*, 2000; Featherstone *et al.*, 2001; Nobre dos Santos *et al.*, 2001, 2002). Consequentemente, em busca de simplificação, e aproveitamento da tecnologia já existente, muitas pesquisas têm empregado o comprimento de onda 10,6 µm (Kantorowitz *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000, 2001; Tepper *et al.*, 2004; Klein *et al.*, 2005; Steiner-Oliveira *et al.*, 2006; Rodrigues *et al.*, 2006; Tagliaferro *et al.*, 2007; da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009; Esteves-Oliveira *et al.*, 2009; Corrêa-Afonso *et al.*, 2012).

Além da obtenção de tecidos mais resistentes à dissolução ácida ao redor do bráquete, outras possíveis vantagens do emprego do laser para prevenção de cárie, quando do uso de aparelho ortodôntico fixo, são a esterilização da região irradiada (Mercer, 1996) e o aumento da retenção do material de colagem ao esmalte irradiado. Este procedimento tem sido empregado com o objetivo de evitar os efeitos adversos do condicionamento ácido e aumentar a adesão da resina (Walsh *et al.*, 1994; Shahabi, 1996).

Observa-se, no entanto, que não foram realizados estudos que tenham avaliado os efeitos da irradiação com o laser de CO₂ e do dentifrício fluoretado na desmineralização do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos numa situação de alto desafio cariogênico (modelo *in situ*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Manchas brancas por desmineralização

Ainda que existam avanços em relação aos materiais e técnicas disponíveis na Ortodontia, pacientes que fazem uso de aparelhos ortodônticos fixos apresentam alto risco de desenvolvimento de áreas de desmineralização do esmalte ao redor de dispositivos ortodônticos, comumente chamadas de lesões de mancha branca. Este achado clínico tem sido apontado como um dos problemas clínicos de grande significância decorrente do tratamento ortodôntico (Gorelick *et al.*, 1982; Mizrahi, 1982; Øgaard *et al.*, 1988, Øgaard, 1989; Gorton, 2003; Zimmer *et al.*, 2004; Lovrov *et al.*, 2007; Al Maaitah *et al.*, 2011).

Maxfield *et al.* (2012) avaliaram, por meio de questionários, a percepção de pacientes, pais, clínicos gerais e ortodontistas em relação ao surgimento de lesões de manchas brancas e o que isso representaria para cada grupo de indivíduos e concluíram que tanto os pacientes, pais e clínicos gerais tinham percepções similares em relação à significância, prevenção e ao tratamento das lesões de manchas brancas. Em média, todos os grupos indicaram que tais lesões prejudicaram a aparência final do tratamento ortodôntico, e todos os grupos afirmaram que a responsabilidade primária do surgimento dessas lesões era dos próprios pacientes.

A lesão de mancha branca é considerada a precursora da lesão de cárie cavitada (Darling, 1956) e tem sido atribuída ao acúmulo prolongado e retenção do biofilme dental na superfície de esmalte adjacente ao aparelho fixo (Zachrisson & Zachrisson, 1971). Em casos mais severos pode haver a necessidade de tratamento restaurador destas lesões, quando cavitadas. A porcentagem de pacientes que desenvolvem lesões de mancha branca decorrentes do tratamento ortodôntico é citada em trabalhos na literatura como variando em torno de 50% (Gorelick *et al.*, 1982; Banks *et al.*, 1997; Boersma *et al.*, 2005; Øgaard *et al.*, 2001, Basdra *et al.*, 1996).

Sabe-se que o desenvolvimento de uma lesão de cárie é um processo dinâmico, sendo caracterizado por períodos alternados de desmineralização e remineralização, que ocorrem constantemente entre os tecidos dentários e os fluidos do meio bucal (Cury, 2001; Featherstone, 2004). Constantemente há trocas minerais, e estas são influenciadas pelas

condições que mantêm um pH crítico na cavidade bucal. Ou seja, desde que seja mantido na cavidade bucal pH maior que 5,5, haverá condição de supersaturação da saliva, que contém cálcio (Ca) e fosfato (P), superando o produto de solubilidade da hidroxiapatita (HA). Assim, a tendência físico-química é o ganho de minerais pelo tecido dental, oriundos do meio-bucal. Conceitua-se o pH de 5,5 como pH crítico, pois este é o limite do produto iônico das concentrações de Ca e P na saliva, que favorece o equilíbrio entre o processo de des-remineralização.

Quando o pH na cavidade bucal é menor que 5,5, a composição da saliva em relação ao Ca e P torna-se inferior (subsaturante) em relação ao produto de solubilidade da HA, e, deste modo, a tendência físico-química é a perda de íons Ca e P do esmalte para o meio bucal, na tentativa de atingir o novo estado de equilíbrio em função do pH atingido. A queda do pH no biofilme dental ocorre após ingestão de carboidratos solúveis (sacarose), ocorrendo como consequência a dissolução do esmalte (Fejerskov & Kidd, 2003).

Estudos que avaliaram as condições salivares de pacientes em tratamento ortodôntico mostraram que o uso de aparelhos ortodônticos removíveis não ocasiona modificações na composição salivar (Ribeiro *et al.*, 2012; Corrêa *et al.*, 1997), entretanto, outros estudos avaliando pacientes que utilizavam dispositivos ortodônticos fixos mostraram esses pacientes apresentaram diminuição do pH salivar e capacidade tampão, além de menor concentração de íons cálcio na saliva, o que sugere que estas condições seriam suficientes para predispor o pacientes a condições mais suscetíveis do processo de desmineralização dentária. Assim, os autores sugeriram que medidas preventivas adicionais seriam essenciais nestes pacientes, uma vez que existe relação direta entre a diminuição do pH, menor concentração de íons cálcio e capacidade de tamponamento salivar menor com o aumento do risco de cárie. Indivíduos com baixa concentração de cálcio na saliva apresentam menor média de pH, demonstram maior suscetibilidade à desmineralização do que indivíduos que apresentam maior concentração salivar de íons cálcio (Teixeira *et al.*, 2012).

A lesão de cárie é o sinal clínico do desequilíbrio do processo des-remineralização, quando há predominância da perda mineral do esmalte e da dentina, sendo definida como resultado da dissolução química dos tecidos duros do dente, provocada por

ácidos provenientes do consumo de açúcar com baixo peso molecular. Pode ser classificada desde o início da perda mineral, podendo se estender até a destruição total do dente (Pitts, 2004). Segundo Lussi *et al.* (1999), quando em estágio inicial, a lesão de cárie pode ser totalmente remineralizada e isto enfatiza a necessidade do aperfeiçoamento de métodos preventivos que possam agir como coadjuvantes na prevenção e controle da cárie dentária em pacientes ortodônticos.

As lesões de mancha branca comprometem a estética dentária, podendo ocorrer por cárie incipiente, opacidades do esmalte ou hipoplasia do esmalte. Em todas as situações há uma diminuição do conteúdo mineral e modificação da organização estrutural, havendo assim um aumento do conteúdo orgânico do esmalte, o que promove a redução da resistência física do tecido (Consolaro & Consolaro, 2006). A lesão inicial de cárie manifesta-se clinicamente como a lesão de mancha branca. A aparência é causada por um fenômeno óptico devido à perda de minerais e substituição do conteúdo orgânico da subsuperfície por ar, assim, quando da secagem exagerada, evidencia-se a mancha (Gorelick *et al.*, 1982).

As características histológicas da lesão de cárie não cavitada são descritas por vários autores sob a forma de quatro zonas: camada superficial, corpo da lesão, zona escura e zona translúcida. A zona superficial é uma camada relativamente intacta (20 a 50 µm de espessura), de aspecto normal, com uma perda mineral de aproximadamente 1% sendo que clinicamente a superfície aparece inalterada; o corpo da lesão é a zona mais larga e com maior índice de desmineralização, sendo a região que apresenta a maior porcentagem de volume de poros, chegando a apresentar perdas de mineral de até 50%; zona escura, a qual é passível de visualização quando o meio de embebição é a quinolina; observa-se nesta região gradual diminuição das perdas minerais; zona translúcida, sendo que sua presença não é comum em todas as lesões, a perda mineral nesta camada é de 1% e representa a frente de avanço da lesão de cárie, a espessura varia de 5 a 100 µm. Apesar de possuir uma superfície relativamente intacta, as lesões iniciais de cárie em esmalte possuem uma superfície 10 a 50 vezes mais porosa que o esmalte sadio (Silverstone, 1973; Fejerskov & Kidd, 2003).

Após a remoção de dispositivos ortodônticos pode ser notada a presença das lesões de mancha branca, o que é motivo de preocupação pela Ortodontia, uma vez que um

dos objetivos da área é a estética dentária, sendo os incisivos laterais superiores os dentes frequentemente mais afetados (Gorelick *et al.*, 1982; Øgaard, 1989; Artun & Brobakken, 1986). Vários estudos relatam e quantificam a prevalência desta ocorrência, sendo a retenção de biofilme dental e eficácia da higienização oral os aspectos mais relacionados à experiência de manchas brancas durante o tratamento ortodôntico (Zachrisson & Zachrisson, 1971).

Chang *et al.* (1997) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a etiologia e prevenção da desmineralização do esmalte durante o tratamento ortodôntico. Estes autores citam fatores etiológicos gerais da cárie dentária, como: os fatores microbianos, fatores salivares, o fluxo salivar, o pH e a capacidade tampão da saliva, a higiene bucal e a dieta. Dentre os fatores etiológicos mais específicos em relação ao tratamento ortodôntico, os autores citam a própria influência da presença do dispositivo ortodôntico fixo, o que gera uma área de estagnação, favorecendo o acúmulo de biofilme e servindo como uma fonte de produção de ácidos na presença de substratos alimentares.

Suckontapartik *et al.* (2001) em um estudo, realizaram uma avaliação para verificar o acúmulo de biofilme adjacente aos bráquetes ortodônticos. Para tanto, os autores avaliaram 11 pacientes que tinham dentes indicados para exodontia, devido ao planejamento ortodôntico. Assim, foram colados bráquetes metálicos em todos os dentes a serem extraídos, utilizando o compósito resinoso Concise Ortodôntico. Um elastic de borracha convencional foi inserido ao redor de um bráquete e uma ligadura metálica no bráquete do lado oposto. Os pacientes foram instruídos a manter a higiene bucal convencional, e os dentes foram extraídos aos pares após uma, duas ou três semanas após a colagem dos dispositivos. Os autores realizaram análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) para analisar as bactérias associadas aos bráquetes e o excesso de material de colagem, sendo que, de acordo com a característica morfológica, as bactérias eram diferenciadas em cocos, bastonetes e bactérias filamentosas. Na avaliação das imagens, os autores observaram que havia a formação de biofilme na região de excesso de material após duas e três semanas da colagem, enquanto o biofilme na região gengival já estava presente desde os estágios iniciais de desenvolvimento. Os autores concluíram então, que o excesso de material de colagem ao redor dos bráquetes é ponto crítico de acúmulo do

biofilme devido à aspereza dessa região, apresentando diversas lacunas na interface compósito/esmalte. Além disso, foi constatado que os elásticos de borracha parecem reter maior quantidade de biofilme que a ligadura metálica.

2.2 Terapias a base de fluoretos

De modo a contornar a questão da dependência da colaboração do paciente com medidas preventivas ao surgimento das lesões de mancha branca, foram desenvolvidas pesquisas que propusessem novos tipos de métodos preventivos à desmineralização ao redor dos bráquetes e bandas ortodônticas que não dependessem da colaboração do paciente.

Segundo Cury (2001), atualmente há um consenso de que o flúor importante é aquele mantido constante na cavidade bucal, o qual é capaz de interferir na dinâmica do processo de cárie, reduzindo a quantidade de minerais perdidos durante o processo de desmineralização e ativando a quantidade de resposta durante a remineralização salivar.

Vários autores sugeriram métodos preventivos para prevenir a desmineralização ao redor dos dispositivos ortodônticos, sendo citados a constante instrução de higiene bucal e o uso de bochechos fluoretados, entretanto, tais medidas dependem da colaboração constante do paciente (Geiger *et al.*, 1992; Shannon, 1981). O uso de fluoretos é um recurso importante na prevenção da desmineralização do esmalte e atualmente, há várias formas de uso deste composto durante o tratamento ortodôntico, incluindo o uso de dentifrícios, bochechos, géis, vernizes e materiais liberadores de flúor, tais como adesivos e elásticos (Benson *et al.*, 2005). Chang *et al.* (1997) relataram que alguns estudos têm concluído que apenas o uso de dentifrício fluoretado não tem sido suficiente para evitar o aparecimento das lesões de mancha branca em pacientes ortodônticos e que seria necessária a suplementação com o uso de bochechos diários.

O'Reilly & Featherstone (1987), em um estudo clínico, objetivaram quantificar e avaliar a extensão da desmineralização ao redor de dispositivos ortodônticos após um mês de uso do aparelho na boca e também, avaliar a habilidade de produtos a base de fluoretos, disponíveis no mercado de inibir ou reverter o processo de desmineralização. Os autores

avaliaram a perda mineral após os diferentes tratamentos e concluíram que após um mês do uso de dispositivos ortodônticos, foi possível observar a rapidez do processo de desmineralização, mesmo com o uso de dentifrício fluoretado, enfatizando então, a necessidade de medidas preventivas adicionais durante o tratamento. O estudo mostrou também, uma forte evidência da efetividade da combinação do uso de dentifrício fluoretado diariamente associado com o uso de bochecho fluoretado (0,05% de fluoreto de sódio) contra o processo de desmineralização e promoção da remineralização quando do emprego contínuo desses dois métodos de uso do fluoreto.

Øgaard *et al.* (1992) objetivaram avaliar *in vivo* o potencial cariostático de um adesivo fotoativável utilizado para a colagem de bráquetes ortodônticos. A liberação de flúor do material foi avaliada tanto em água quanto em saliva. Dez voluntários possuindo pré-molares indicados para a extração participaram do estudo. Foram avaliados os materiais Heliosit-Orthodontic (Vivadent, Liechtenstein), não liberador de flúor, e o cimento ortodôntico VP 862 (Vivadent, Liechtenstein), que apresenta uma liberação de flúor lenta. Os voluntários foram instruídos a utilizarem dentifrício fluoretado durante o experimento. Após quatro semanas de estudo, os dentes previamente selecionados foram extraídos e o conteúdo mineral do esmalte ao redor dos bráquetes foi avaliado por microrradiografia. A liberação de flúor de discos confeccionados em laboratório com o material adesivo liberador de flúor foi avaliada em água, após um período de seis meses e em saliva, após um período de 24 horas. O material liberador de flúor reduziu a profundidade da lesão em 48% em relação ao adesivo não liberador de flúor. A maior liberação de flúor do material em água foi observada na primeira semana, entretanto, uma quantidade significativa de flúor ainda era liberada mesmo após os seis meses de experimento. A liberação de flúor foi significativamente menor em saliva humana em um pH sete do que em água, entretanto, quando o pH salivar atingia um valor inferior a quatro, mimetizando um desafio cariogênico, essa quantidade de flúor aumentava, se assemelhando aos valores observados em água. Como conclusão do estudo, os autores afirmam que a liberação de flúor é pH dependente e ainda, que o uso regular de dentifrício fluoretado é insuficiente para inibir o desenvolvimento de lesões de mancha branca ao redor de bráquetes ortodônticos.

Gorton *et al.* (2003), em um estudo *in vivo*, realizaram uma análise quantitativa dos efeitos do cimento de ionômero de vidro sobre os dentes com bráquetes ortodônticos, que tinham indicação de extração por razões ortodônticas. Para isso, eles avaliaram a porcentagem de perda mineral, que foi calculada baseada no quanto de desmineralização houve e ainda, avaliaram as concentrações de flúor de amostras de saliva colhidas dos pacientes. Os voluntários foram instruídos a escovarem seus dentes duas vezes ao dia com um dentifrício fluoretado (1100 ppm F). Como material não liberador de flúor, os autores utilizaram a resina Transbond XT (3M Unitek, Monrovia). Ao final de quatro semanas de experimento, os dentes previamente selecionados foram extraídos e armazenados em solução de timol a 0,1%. Posteriormente, foi realizada a análise de microdureza longitudinal, seguindo o padrão em V. Os resultados de microdureza mostraram que houve significativamente maior desmineralização ao redor dos bráquetes do grupo que utilizou o material de colagem não liberador de flúor. Em relação à análise salivar, oito amostras foram coletadas de cada paciente ao longo das quatro semanas, não havendo diferença significativa entre os grupos testados quanto à concentração de flúor na saliva. Assim, os autores concluíram que o cimento de ionômero de vidro foi capaz de reduzir significativamente a desmineralização ao redor dos bráquetes ortodônticos, no período de quatro semanas de avaliação.

Rogers *et al.* (2010), realizaram uma revisão de literatura sistemática objetivando avaliar a literatura quanto à efetividade de materiais adesivos contendo flúor no controle da desmineralização do esmalte dentário em pacientes em tratamento ortodôntico. Os autores encontraram evidência de que o uso do cimento de ionômero de vidro como material adesivo é mais efetivo em prevenir a desmineralização durante o tratamento ortodôntico, em relação às resinas compostas convencionais. Entretanto, devido às limitações de adesão do ionômero, o mesmo não pode ser recomendado. Ainda, os autores concluíram que mais estudos são necessários para avaliar a efetividade dos materiais adesivos que contêm flúor.

Baeshen *et al.* (2011), em um estudo longitudinal de seis semanas, avaliaram o efeito de gomas de mascar fluoretadas a partir de miswaks (gomas de mascar) no processo de remineralização de lesões de mancha branca diagnosticadas após a remoção de

bráquetes. Para tanto, os voluntários utilizaram moldeiras que recobriam uma das hemiarcadas superiores, de modo a ser o lado controle de um mesmo voluntário. Os autores utilizaram fotografias intraorais e exame clínico direto para avaliação das lesões. Como resultado, o estudo demonstrou que miswaks impregnados com fluoreto de sódio a 0,05% têm um forte efeito no processo de remineralização das lesões de mancha branca quando comparados aos miswaks que não são fluoretados.

Benson *et al.* (2005), em uma revisão sistemática de literatura, objetivaram avaliar a efetividade dos fluoretos na prevenção da ocorrência de lesões de mancha branca em pacientes ortodônticos. Os autores avaliaram estudos que utilizaram diversas formas de uso de fluoretos e encontraram evidência de que o uso diário de bochecho fluoretado é capaz de reduzir a severidade da desmineralização e ainda, que o emprego de cimentos de ionômero de vidro para colagem de dispositivos ortodônticos reduz a ocorrência de lesões de mancha branca, quando comparados às resinas compostas. Baseados nos estudos avaliados, os autores sugerem que a melhor opção de recomendação de uso de fluoretos como método preventivo seria o uso de bochechos diários contendo fluoreto de sódio a 0,05%.

2.3 Materiais adesivos para colagem de bráquete

O procedimento de colagem em esmalte dental baseia-se em alterações morfológicas ocorridas no esmalte em decorrência da ação de tratamentos superficiais propostos inicialmente por Buonocore (1955). O autor verificou que a ação de substâncias ácidas sobre a estrutura mineral possibilita a retenção micromecânica de materiais resinosos ao esmalte dental previamente condicionado. Tal descoberta também foi empregada na Ortodontia, promovendo grandes benefícios clínicos, uma vez que este mecanismo de união permanece sendo usado quando na colagem de acessórios ortodônticos.

Newman (1965) foi o pioneiro a realizar um trabalho que abordasse a colagem direta de bráquetes plásticos sobre a superfície dentária com o uso de uma resina epóxica. As resinas acrílicas e epóxicas foram sendo substituídas pelas resinas compostas e, em 1972, Wilson & Kent propuseram a utilização do cimento de ionômero de vidro como uma nova alternativa como material de colagem de acessórios ortodônticos. Tavas & Watts

(1979) descreveram o uso da luz visível no processo de polimerização de compósitos empregados na colagem de acessórios ortodônticos e Antonucci *et al.* (1988) descreveram, posteriormente, os cimentos de ionômero de vidro modificados por resina como materiais de colagem ortodôntica.

Bertoz *et al.* (1991) analisaram o comportamento clínico da cimentação de bráquetes com ionômero de vidro (SHOFU 1), por um período de até 18 meses. Para isso, os acessórios ortodônticos foram colados em 80 dentes de 10 pacientes com idades compreendidas entre 14 e 17 anos. A manipulação do material de colagem foi realizada seguindo-se as recomendações do fabricante. Após quatro meses do início do estudo, os autores observaram que dez bráquetes haviam se soltado, sendo necessário, portanto, nova cimentação do acessório, com o mesmo material previamente utilizado. Oito acessórios se soltaram após 13 meses de avaliação e, após 17 meses, apenas um bráquete. Os autores concluíram que o cimento de ionômero de vidro SHOFU I mostrou-se eficiente na colagem de bráquetes ortodônticos. O material empregado no estudo mostrou-se capaz de prevenir o desenvolvimento de desmineralização do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos, comumente observada ao fim do tratamento ortodôntico.

Fjeld & Øgaard (2006) avaliaram o efeito de três sistemas adesivos sobre a superfície do esmalte dentário utilizados em Ortodontia para colagem de bráquetes. Os tratamentos avaliados foram o condicionamento ácido da superfície do esmalte com ácido fosfórico 35% e posterior aplicação do primer e adesivo Transbond XT (3M Unitek, Monrovia, Calif), condicionamento do esmalte com ácido poliacrílico 10% e posterior aplicação de um cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Fuji ORTHO LC, GC, Corporation, Tóquio, Japão) ou aplicação de um sistema adesivo autocondicionante (Transbond Plus) e aplicação do sistema adesivo Transbond XT. As superfícies dos espécimes de esmalte foram condicionadas com um dos três sistemas condicionantes e, posteriormente, foram avaliadas por MEV. Bráquetes ortodônticos foram colados aos espécimes empregando-se um dos três sistemas adesivos e realizou-se nova avaliação por MEV. Os sistemas adesivos induziram diferentes efeitos na estrutura do esmalte dental, O ácido fosfórico tornou a superfície rugosa, com padrão típico de favos de mel. Nesses espécimes submetidos ao condicionamento com ácido fosfórico, as imagens mostraram a

presença de uma espessa camada de tags resinosos penetrando no esmalte a mais de 20 µm de profundidade e alteração no padrão dos prismas do esmalte em regiões mais profundas, sem a presença de tags. No grupo submetido ao condicionamento com ácido poliacrílico, as imagens não mostraram a presença de tags resinosos. Já no grupo submetido ao primer autocondicionante, as imagens evidenciaram a presença de tags resinosos, entretanto, em menor quantidade do que no grupo condicionado com ácido fosfórico. Assim, os autores concluíram que dentre os sistemas de colagem avaliados, as superfícies do esmalte que foram condicionadas com o primer autocondicionante ou ácido poliacrílico possivelmente apresente maior falha na colagem, uma vez que estes sistemas apresentaram menos efeitos irreversíveis sobre as estruturas de esmalte.

Materiais adesivos que apresentam liberação lenta de flúor promovem redução e até mesmo inibição do processo de desmineralização do esmalte adjacente ao material (Sonis & Snell, 1989). A vantagem principal de materiais com liberação lenta de flúor é relacionada à liberação inicial do fluoreto adjacente ao bráquete ortodôntico, sendo essa a área de maior risco à desmineralização do esmalte.

2.4 Laser de CO₂

O uso de lasers na Odontologia tem sido relatado há quase 50 anos. Stern e Sognnaes (1964) foram os primeiros a fazer referência à irradiação de tecidos dentários. Dentre os mais diversos tipos de laser utilizados em Odontologia, tem-se o laser de CO₂ como um dos mais estudados, além de possuírem alta absorção pelos tecidos dentários duros (Fried *et al.*, 1996; 1997) e maior efeito na redução da desmineralização do esmalte. O emprego eficiente dos lasers com o objetivo de redução da desmineralização do esmalte dentário requer o conhecimento dos processos físicos que levam a absorção da energia depositada pela irradiação com laser. O nível de interação que ocorre entre o tecido dentário e o laser depende das propriedades estruturais do tecido irradiado, bem como do comprimento de onda, densidade de energia, duração de pulso e taxa de repetição do laser (Gimbel, 2000).

Em relação ao laser de CO₂, a maior parte da luz é absorvida nos poucos micrometros externos da superfície do esmalte e convertida em calor, causando perda de

carbonato do mineral, fusão/derretimento dos cristais de hidroxiapatita, tendo como consequência diminuição da dissolução desta estrutura aos ácidos (Featherstone & Nelson, 1987). O coeficiente de absorção do laser pelo tecido dentário deve ser alto o suficiente para modificar a superfície sem danificar o tecido circunjacente e o tecido pulpar.

Os comprimentos de onda obtidos com os lasers de CO₂ (λ = 9,3, 9,6, 10,3 e 10,6 μ m) são mais apropriados para a utilização em esmalte dentário, pois produzem radiação na região do infravermelho que coincide com algumas bandas de absorção da hidroxiapatita, principalmente com os grupamentos fosfato e carbonato (Featherstone *et al.*, 1998). Segundo Featherstone (2000), os comprimentos de onda de 9,3 μ m e 9,6 μ m com duração de pulso de 100 μ s ou menos são os comprimentos mais indicados para uso na prevenção da cárie dentária. Entretanto, ainda não existem aparelhos de laser comercialmente disponíveis que possam produzir tais condições, de modo que as pesquisas realizadas com estes parâmetros utilizaram protótipos (Featherstone *et al.*, 1998; Frentzen & Koort, 1990; Fried *et al.*, 1997; Zuerlein *et al.*, 1999). Consequentemente, em busca de simplificação e aproveitamento da tecnologia já existente, muitas pesquisas têm empregado o comprimento de onda 10,6 μ m (Kantorowitz *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000; Klein *et al.*, 2005; Steiner-Oliveira *et al.*, 2006; Tagliaferro *et al.*, 2007).

Para aplicações em Odontologia, os aparelhos de laser de CO₂ operam em um modo de não contato (Rodrigues *et al.*, 2004) podendo ser contínuo ou pulsado (Coluzzi, 2004). A maior parte dos estudos iniciais que empregou lasers de CO₂ com a finalidade de prevenir a cárie utilizou o laser operando em modo contínuo, com tempos de interação que variavam de 50ms a 2s. Esses tempos são muito maiores que o tempo de relaxamento térmico do esmalte (tempo necessário para o resfriamento do substrato), que é aproximadamente 100 μ s (Zach & Cohen, 1965). Para tempos de interação tão longos, grande parte da energia laser absorvida é conduzida da superfície do esmalte para o interior do dente, o que pode resultar em aquecimento ineficiente da superfície e possível dano pulpar. Um princípio importante de qualquer modo de emissão do laser é que a energia atinge o tecido durante um determinado período de tempo, produzindo uma interação térmica (White *et al.*, 1992). Se o laser estiver em um modo pulsado, o tecido alvo tem tempo de resfriar antes que o próximo pulso de energia do laser seja emitido. Em modo

contínuo, o operador deve cessar a emissão do laser manualmente, de modo que o relaxamento térmico do tecido possa ocorrer. Consequentemente, a utilização de lasers que operem em modo contínuo para prevenção de cárie é geralmente menos eficaz e danosa que o uso em modo pulsado.

O laser de CO₂ tem sido utilizado no diagnóstico de cárie, no selamento de cicatrículas e fissuras e no favorecimento da penetração do flúor nos tecidos dentários, tornando-os mais resistentes e menos permeáveis ao ataque ácido bacteriano (Longbottom & Pitts, 1993; Steiner-Oliveira *et al.*, 2008). As modificações morfológicas e estruturais que ocorrem na superfície do esmalte dentário (fusão e derretimento) são fenômenos de importância em relação à obtenção do efeito preventivo (Ferreira *et al.*, 1989).

O emprego dos lasers de alta potência consiste no tratamento do esmalte para a obtenção de superfícies mais resistentes aos ácidos produzidos pelas bactérias cariogênicas (Rodrigues *et al.*, 2007; Stern *et al.* 1972; Kantola, 1972; Kantola *et al.*, 1973; Nelson *et al.*, 1986, 1987; Featherstone *et al.*, 1991, 1998; Kantorowitz *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000). Diversas são as hipóteses que tentam explicar este aumento da resistência do esmalte dentário irradiado ao desafio cariogênico. Dentre elas podemos citar a redução na permeabilidade do esmalte a agentes químicos, causada pelo derretimento da superfície do esmalte (Stern *et al.*, 1966). No entanto, essa hipótese não foi confirmada, uma vez que o único estudo que avaliou a permeabilidade do esmalte observou que a mesma aumentava e não diminuía (Borggreven *et al.*, 1980)

Outra hipótese seria a redução do conteúdo de água, proteína e carbonato nos espécimes irradiados (Kuroda & Fowler, 1984; Steiner-Oliveira *et al.*, 2006), assim como a formação de compostos fosfatados no esmalte dentário como fosfato tricálcico na fase beta, fosfato tricálcico na fase alfa, fosfato tetracálcico (Kantola *et al.*, 1973; Meurman *et al.*, 1992; Steiner-Oliveira *et al.*, 2006). Essa redução do conteúdo de carbonato decorrente da irradiação do esmalte com o laser de CO₂ é um fator positivo, uma vez que o carbonato torna a apatita mais instável e solúvel em ácido (Robinson *et al.*, 2000). No entanto, Kuroda & Fowler (1984) concluíram em seu estudo que compostos fosfatados formados, como os citados acima, são mais solúveis em ácido quando comparados ao esmalte dentário e a hidroxiapatita; redução da solubilidade do esmalte decorrente do derretimento e

recristalização dos cristais de hidroxiapatita ou pela mudança de solubilidade da apatita aquecida pela formação de compostos fosfatados menos solúveis (Nelson *et al.*, 1986; 1987). Entretanto, estudos que utilizaram a microscopia eletrônica de varredura demonstraram que, quando presentes, essas áreas de derretimento não são homogêneas e ocorrem em áreas limitadas (Ferreira *et al.*, 1989; Rodrigues *et al.*, 2006). Assim, o derretimento não parece ser a única causa para a diminuição da reatividade ácida do esmalte.

Outra teoria que explica o mecanismo de ação do laser se refere à alteração da matriz orgânica presente no esmalte, podendo causar uma decomposição dessa matriz (pirólise). Esta decomposição poderia bloquear os espaços intra e interprismáticos com consequente comprometimento da difusão de íons (Hsu *et al.*, 2000). O exato mecanismo ou associação de mecanismos de como se dá essa diminuição da desmineralização no esmalte não está ainda elucidado. Apesar de os lasers de CO₂ serem objeto de estudo desde 1960, os trabalhos científicos ainda apresentam discrepâncias no modo de atuação destes lasers em relação aos efeitos benéficos obtidos no esmalte dentário irradiado na prevenção da cárie dentária, principalmente quando se leva em conta o comprimento de onda utilizado.

A quantidade de calor produzida pela irradiação com o laser pode ser controlada pela potência, comprimento de onda, tempo de exposição, área em que a energia é aplicada (diâmetro do feixe) e pelo coeficiente de absorção do tecido com relação ao laser (González *et al.*, 1999). Assim, a energia térmica gerada pela irradiação será diretamente proporcional à potência e ao tempo de exposição e inversamente proporcional ao diâmetro do feixe do laser. Quanto maior a absorção da luz laser, menor será o espalhamento da energia térmica. Mais recentemente, Steiner-Oliveira *et al.* (2006), monitoraram a temperatura intrapulpar durante a irradiação com o laser de CO₂, com densidades de energia variando de 1,5 a 11,5 J/cm², verificando que para todos os grupos irradiados, a temperatura intrapulpar não excedeu mais que 3°C, sendo um método seguro em relação aos efeitos à polpa dentária.

2.4 Associação do laser de CO₂ a compostos fluoretados

Sabe-se que o declínio mundial da doença cárie tem sido inicialmente relacionado ao amplo uso de compostos a base de fluoreto (Clarkson *et al.*, 2000). Existe um consenso a respeito do efeito do fluoreto na dinâmica da cárie dentária, reduzindo a desmineralização e aumentando a remineralização dos tecidos duros dentários. Entretanto, esse efeito protetor dos fluoretos é parcial, uma vez que o mesmo não é capaz de impedir completamente o desenvolvimento de lesões de cárie. Assim, os efeitos da associação dos lasers a compostos fluoretados poderiam propiciar uma maior efetividade na prevenção e controle da doença cárie.

Vários estudos demonstraram que a associação da irradiação com laser de CO₂ a agente fluoretados promove uma potencialização do efeito inibitório da desmineralização do esmalte (Hsu *et al.*, 2001; Nobre dos Santos *et al.*, 2001; 2002; Rodrigues *et al.*, 2006).

O sinergismo entre os dois tratamentos pode ser explicado por dois possíveis mecanismos de ação, ambos decorrentes do aumento da reatividade do esmalte aos fluoretos (Rodrigues *et al.*, 2007). Uma das hipóteses sugere que a associação entre os tratamentos produz, sobre o esmalte dentário, numerosos precipitados esféricos que, morfológicamente se assemelham ao fluoreto de cálcio, sendo então, um reservatório de flúor, quando em situação de desafio cariogênico (Chin-Ying *et al.*, 2004). Assim, esse primeiro mecanismo está relacionado à formação de pequenas fendas ou crateras na superfície do substrato irradiado que possibilitariam maior difusão dos íons flúor para o interior do esmalte. Outra hipótese que procura explicar um maior efeito da associação do laser com o fluoreto enfatiza o papel dos lasers na incorporação de flúor dentro da estrutura cristalina na forma de flúor fortemente ligado (fluorapatita) (Meurman *et al.*, 1992). Portanto, a formação da fluorapatita é dependente da presença de flúor no momento da irradiação para que este íon seja aprisionado dentro do cristal de hidroxiapatita. Ainda não existe consenso na literatura a respeito do momento ideal de aplicação do flúor se antes ou após a irradiação com o laser.

Em um trabalho de Rodrigues *et al.* (2006), foi demonstrado pela primeira vez, *in situ*, a existência do sinergismo entre a utilização de dentifrício fluoretado e a irradiação

do esmalte com laser de CO₂ com o comprimento de onda de 9,6 µm. Por ser um estudo *in situ*, os voluntários utilizaram um dispositivo palatino removível, contendo espécimes de esmalte dentários humanos irradiados. Os voluntários gotejavam sobre os espécimes solução de sacarose a 20%, oito vezes ao dia, de modo a permitir um alto desafio cariogênico, sendo este delineamento representativo do que ocorre no meio bucal de pacientes com alto risco ao desenvolvimento de cárie. Neste estudo de Rodrigues *et al.* (2006), os autores sugerem que a potencialização dos efeitos do flúor pode ter ocorrido devido à maior formação de fluoreto de cálcio, decorrente das alterações da estrutura do esmalte irradiado, como derretimento, fusão e recristalização.

A pesquisa realizada por de Souza-e-Silva *et al.* (2013), avaliou a associação de materiais de colagem liberadores de flúor ao uso do laser de CO₂. Para isso, os autores realizaram um estudo *in vitro*, no qual foram utilizados como material liberador de flúor o cimento de ionômero de vidro e a resina Transbond XT como material não liberador de flúor. Os parâmetros de irradiação do laser utilizados no trabalho foram comprimento de onda de 10,6 µm de modo pulsado e densidade de energia de 10,0 J/cm². Os autores utilizaram nesse trabalho como desafio cariogênico o modelo microbiológico. Foram realizadas as análises microbiológica e bioquímica do biofilme formado ao redor dos bráquete e análise de microdureza longitudinal para quantificação da perda mineral do esmalte ao redor do bráquete ortodôntico. Nas condições do estudo, os autores concluíram que o laser isolado ou em associação com o material liberador de flúor foi capaz de reduzir a desmineralização do esmalte ao redor de bráquetes. Entretanto, não houve evidência de que exista um efeito adicional da associação entre o laser e o material fluoretado.

2.5 Estudos com modelos *in situ* em Ortodontia

A expressão *in situ* origina-se do latim e significa “no lugar”, ou seja, estudo de determinado fenômeno no lugar exato onde ele ocorre, como por exemplo, a formação de biofilme dental, cárie, erosão dental, dentre outros, no interior da cavidade bucal. Os estudos *in situ* são altamente variáveis, tendo modelos que utilizam diferentes tipos de substrato, diferentes sítios de localização bucal, diferentes períodos de exposição do

substrato ao desafio cariogênico, uso de reentrâncias ou espaço que permitam o acúmulo de biofilme e o uso de vários métodos de quantificação mineral (Cochrane *et al.*, 2012).

Os modelos de estudo *in situ* têm sido aceitos para o estudo de cárie dental (Zero, 1995), sendo também utilizados para avaliar a desmineralização do esmalte ao redor de dispositivos ortodônticos (Øgaard & Rølla, 1992; Benson *et al.*, 1999; Doherty *et al.*, 2002). As lesões de mancha branca que se formam em decorrência do tratamento ortodôntico são preocupantes não apenas do ponto de vista estético, mas também preventivo e a utilização de um modelo que permita uma avaliação adequada do mecanismo de ação de diferentes tecnologias é de grande valia, pois permite o estudo dos processos de desmineralização e remineralização, conseguindo determinar a taxa pela qual os minerais retornam à lesão.

Benson *et al.* (1999) realizaram um estudo objetivando desenvolver e testar o modelo *in situ* para estudar os mecanismos de desmineralização e remineralização durante o tratamento ortodôntico. O objetivo do estudo foi avaliar espécimes de esmalte dental com e sem bráquetes, submetidos ou não ao desafio cariogênico de um modelo *in situ*. Os resultados mostraram que os espécimes que não possuíam bráquetes tiveram uma taxa de remineralização significativamente maior e ainda, que o modelo *in situ* é um método útil para o estudo de terapias que diminuam o processo de desmineralização.

Gameiro *et al.* (2009) avaliaram dois tipos diferentes de ligaduras, elastoméricas e amarrão de aço, em bráquetes ortodônticos, analisando o biofilme dental de acordo com a ligadura e a perda mineral ao redor dos bráquetes. No estudo, os autores avaliaram a o biofilme formado ao redor dos bráquetes além da perda mineral ao redor dos mesmos. As diferentes ligaduras avaliadas não diferiram entre si em relação ao peso de biofilme, contagem de bactérias (*Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*). A desmineralização do esmalte ao redor dos bráquetes também não diferiu entre os diferentes tipos de ligaduras, entretanto, a análise estatística mostrou uma tendência de maior desmineralização ao redor dos bráquetes ligados com elastômeros. Ainda, os autores concluem que o modelo *in situ* pode ser seguro para avaliar o potencial cariogênico de procedimentos clínicos durante o tratamento ortodôntico.

No entanto, ainda não foram realizados estudos que tenham avaliado os efeitos da irradiação com o laser de CO₂ e do dentifrício fluoretado na desmineralização do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos colados com um sistema adesivo, numa situação de alto desafio cariogênico (modelo *in situ*).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi investigar *in situ* os efeitos do uso do laser de CO₂ e do dentifrício fluoretado (1100 ppm F) na prevenção da desmineralização do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos, colados com um sistema adesivo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Considerações éticas

O estudo somente foi conduzido após a aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FOP – UNICAMP (Anexo 1). Todos os voluntários receberam um “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”, explicando a realização do estudo, os objetivos, riscos e benefícios aos quais estariam expostos, de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras do Conselho Nacional de Saúde (Resolução nº 196/96). Este Termo teve duas vias, uma pertencente ao pesquisador, e outra, entregue ao voluntário.

4.2 Delineamento experimental

O estudo foi realizado com um delineamento fatorial de indução de mancha branca por meio do acúmulo de biofilme e consequente desafio cariogênico. Os fatores sob avaliação foram o uso de um sistema adesivo ortodôntico, a irradiação com laser de CO₂ e o tipo de dentifrício (não-fluoretado ou fluoretado com 1100 ppm F). Foi realizado um estudo *in situ*, cego, em duas fases, durante as quais 20 voluntários, de 20 a 30 anos, utilizaram dispositivos intraorais palatinos contendo quatro espécimes de esmalte dentário humano. Em cada fase de 14 dias, cada espécime recebeu um dos seguintes tratamentos: (1) Adesivo + Dentifrício não-fluoretado (DNF) (grupo controle), (2) Irradiação com laser de CO₂ + Adesivo + DNF, (3) Adesivo + Dentifrício fluoretado (DF), (4) Irradiação com laser de CO₂ + Adesivo + DF. Os voluntários foram randomicamente alocados aos tratamentos, e aqueles que receberam os tratamentos “controle” e “laser” na primeira fase, receberam “dentifrício fluoretado” e dentifrício fluoretado + laser na segunda fase, e vice-versa (figura 1).

No décimo quarto dia de cada fase, o biofilme formado ao redor dos bráquetes sobre os espécimes dentais foi coletado para análise de flúor. Os espécimes dentais foram coletados, seccionados, e posteriormente submetidos à análise de microdureza longitudinal, avaliando, assim, a área desmineralizada em função da profundidade de lesão. Após o

período de wash-out de sete dias, novos espécimes de esmalte foram colocados nos dispositivos intraorais para a nova fase do experimento.

4.3 Seleção dos voluntários

Foram selecionados 20 alunos de pós-graduação do curso de Odontologia da FOP- UNICAMP na faixa etária pretendida entre 20-30 anos, em bom estado de saúde bucal e geral, não fumantes e não usuários de medicamentos que pudessem afetar o fluxo salivar (Zero, 1995), e antimicrobiano nos últimos seis meses; ausência de necessidade de tratamento odontológico; que possuíssem disponibilidade para comparecer ao local da pesquisa nos horários determinados pelo protocolo experimental e disposição de cumprir o estabelecido. Não houve qualquer especificação de sexo, cor, raça ou grupo social. Foram excluídos os voluntários que apresentassem lesões de cárie ativas, doenças periodontais, bandas ortodônticas, doenças cardiovasculares, doenças graves, mulheres grávidas ou amamentando e indivíduos diabéticos.

Os 20 voluntários (designados por letras de A a T) (figura 2) foram aleatoriamente divididos em quatro grupos de tratamentos (Figura 1):

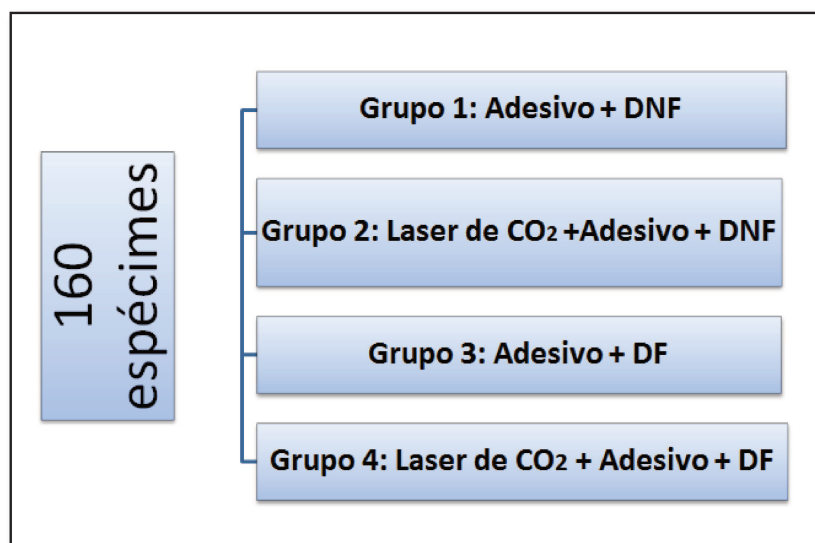


Figura 1 – Divisão dos grupos

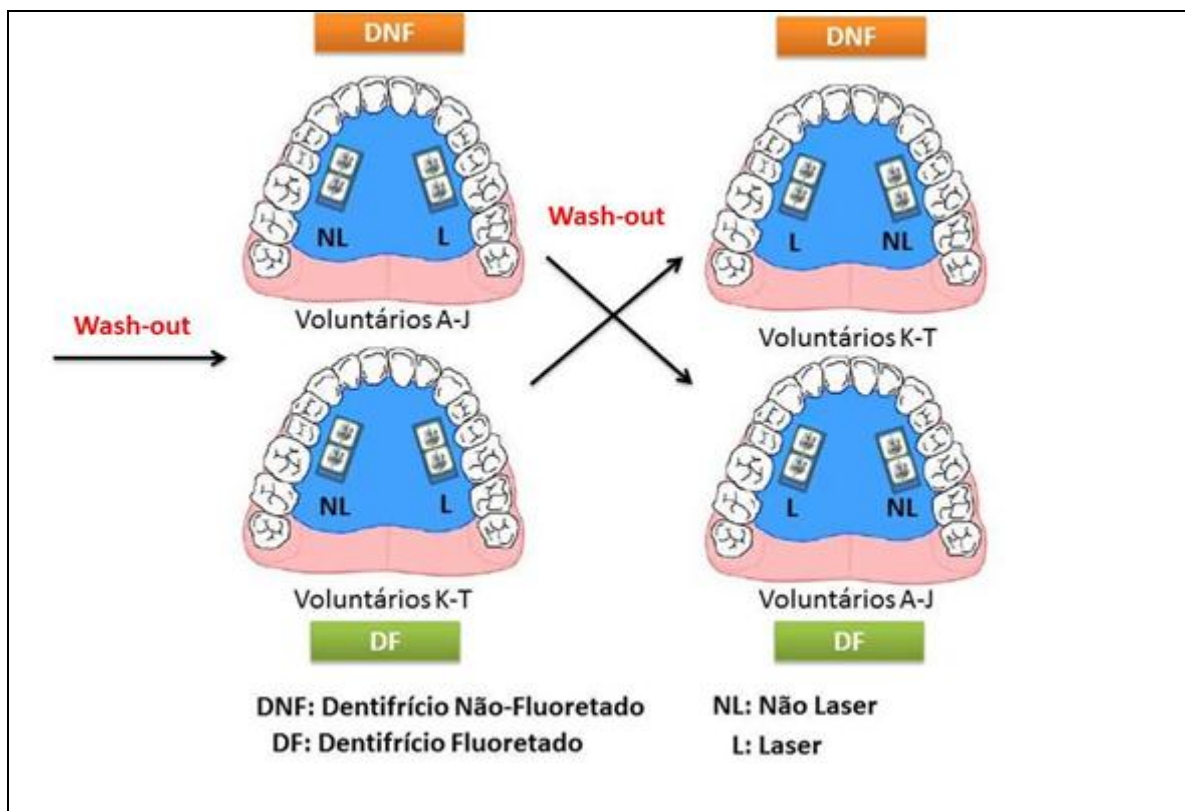


Figura 2 - Delineamento experimental usado no estudo - voluntários

4.4 Fase intraoral

Todos os voluntários passaram pelos quatro tratamentos. Os tratamentos que tinham o uso do dentifrício fluoretado foram realizados na mesma fase. O uso de dois tratamentos (boca-dividida) no mesmo dispositivo palatino é assegurado pela ausência de qualquer efeito cruzado entre os espécimes de esmalte irradiados e não irradiados (Rodrigues *et al.*, 2006). Deve-se enfatizar que o uso do delineamento do tipo boca-dividida não foi usado para os diferentes dentifrícios, uma vez que há a possibilidade de efeito cruzado. Assim, ambos os tratamentos que tinham dentifrício fluoretado foram realizados na mesma fase. Em acréscimo, o fato de que o estudo foi dividido em apenas duas fases proporcionou maior comodidade aos voluntários, sendo eticamente recomendável.

Previamente ao início de cada fase e entre esta e a segunda fase, houve um intervalo de sete dias (wash-out), em que os voluntários fizeram uso do dentifrício não-fluoretado a fim de reestabelecer as concentrações de flúor na saliva (Withford, 1994). O

dentifrício não continha em sua composição substâncias antimicrobianas para que não interferisse nos resultados do estudo.

Cada voluntário recebeu uma escova dental de tamanho adulto e dentifrício específico para cada fase. Após o início da etapa *in situ* foi recomendada escovação dentária três vezes ao dia, em horários pré-determinados, sendo permitido aos voluntários limpar apenas a parte interna de seus dispositivos intraorais, usando exclusivamente o dentifrício a eles fornecido, fluoretado (1100 ppm F) ou não, dependendo da fase do estudo. Para simular o alto desafio cariogênico, os voluntários foram orientados a gotejar solução de sacarose a 20%, em horários pré-determinados, sobre cada espécime dentário, e após cinco minutos recolocar os aparelhos na boca. Este procedimento foi repetido oito vezes ao dia (Pecharki *et al.*, 2005). O dispositivo intraoral palatino foi usado diariamente, inclusive para dormir, sendo removido apenas durante as refeições ou ingestão de qualquer bebida ácida. Quando removido da boca, o dispositivo intraoral palatino foi mantido no estojo fornecido e em ambiente úmido com o objetivo de manter as bactérias do biofilme viáveis (Apêndice 1).

O dentifrício foi manipulado para o experimento, a base de sílica e fluoreto de sódio, com 1100 ppm F. Ao final do estudo todos os voluntários haviam sido submetidos a todos os tratamentos.

No décimo quarto dia de cada fase, o biofilme formado ao redor dos bráquetes sobre os espécimes dentais foi coletado para análise de flúor. A desmineralização foi investigada por meio de análise de microdureza longitudinal. Após o período de wash-out de sete dias, novos espécimes de esmalte foram colocados nos dispositivos intraorais para a nova fase do experimento. O estudo foi cego, uma vez que os voluntários não podiam identificar o tipo de tratamento ao qual estavam sendo submetidos.

4.5 Preparo dos espécimes

Para a realização deste estudo, foram utilizados 80 dentes terceiros molares humanos retidos, extraídos de voluntários sem distinção de raça, cor, sexo ou idade, com total liberdade de participação nesta pesquisa. Foram excluídos os dentes que apresentassem

fraturas coronárias, manchas brancas e ou rachaduras. Os dentes foram extraídos por razões clínicas que inviabilizavam a conservação dos mesmos e não com a finalidade de inclusão neste estudo. Após a extração, os dentes foram mantidos em solução de timol 0,1% e subsequentemente esterilizados por radiação gama (Gammacell 220 Excel (GC-220E)) a uma dose de 25 KGy (Amaechi *et al.*, 1999; Rodrigues *et al.*, 2004) no Centro de Energia Nuclear – Universidade de São Paulo (CENA-USP). Posteriormente, empregando-se uma cortadeira (Isomet 1000; Buehler, Lake, Bluff, IL, USA) com o uso de dois discos diamantados (102 mm x 0,30 mm x 127 mm – 15HC Diamond – Buehler, Lake Bluff, USA) e espaçador acrílico de 5 mm entre os discos, foi realizada a remoção da porção radicular, por meio de corte transversal na região cervical do dente, próximo à junção amelocementária. Prosseguindo, foram feitos dois cortes, sendo o primeiro corte, no sentido mésio-distal e o segundo, no sentido vestibulo lingual, obtendo assim, espécimes de esmalte com área de 5 x 5 x 2 mm. Os cortes foram feitos sob refrigeração com água deionizada e depois analisados com auxílio de lupa estereoscópica (aumento 10X) para verificar se estavam livres de machas intrínsecas e/ou extrínsecas e trincas. Cada espécime foi submetido à profilaxia com pasta de alumina de granulometria de 5µm, com o uso de taça de borracha em baixa velocidade, durante 30 segundos. Ao final, os espécimes foram lavados com água deionizada e sonicados durante cinco minutos, por duas vezes (Figura 3).

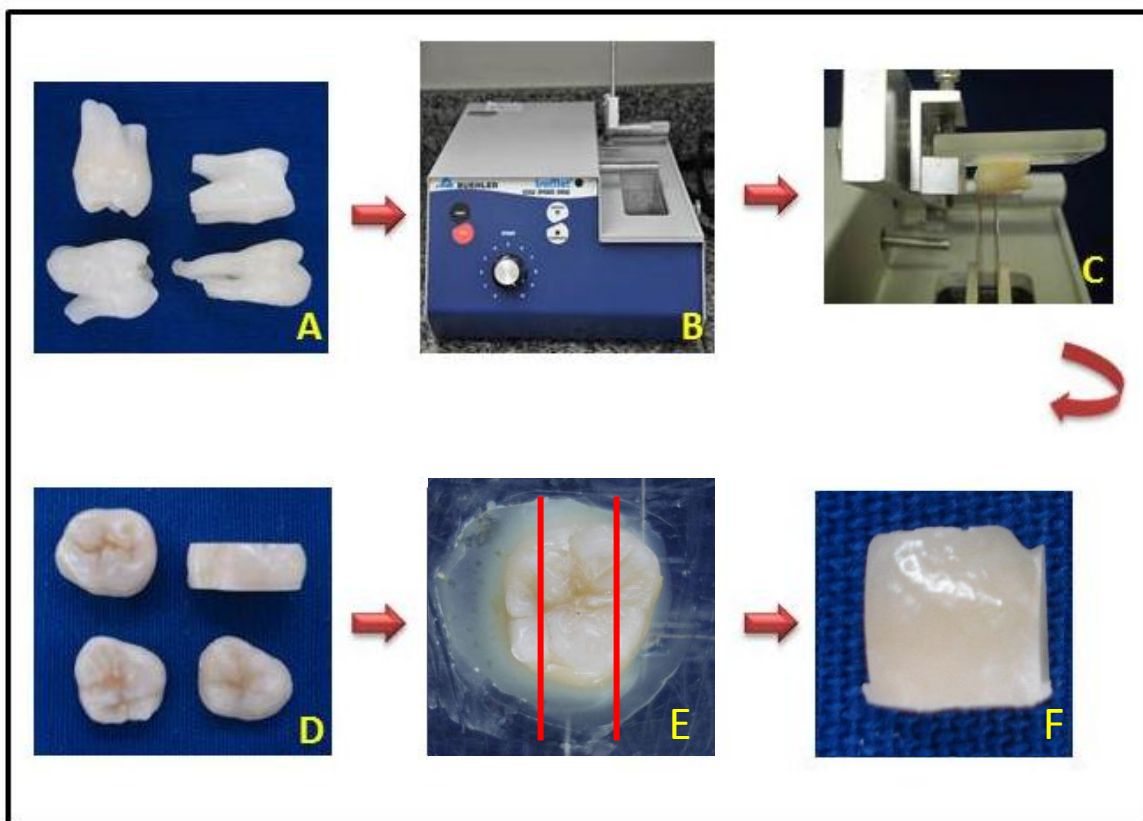


Figura 3. (A) Dentes terceiros molares extraídos; (B) Cortadeira Isomet 1000 - Buehler, Lake, Bluff, IL, USA; (C) Corte para separar a coroa da raiz (espaçador de 5mm entre os discos diamantados); (D) Fatias de 5mm de largura; (E) Plano de corte para obtenção dos espécimes; (F) Espécime cortado medindo 5 x 5 x 2 mm.

4.6 Irradiação com laser de CO₂

A irradiação do esmalte dentário foi realizada no Laboratório Especial de Laser em Odontologia (LELO), da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, onde os espécimes de esmalte dos grupos 2 (Laser + Adesivo + DNF) e 4 (Laser + Adesivo + DF) foram irradiados com laser de CO₂ no modo pulsado (Union Medical Engineering CO.) (Figura 4), com comprimento de onda 10,6 μm, calibrado com os seguintes parâmetros: 1 pulso com duração de 10 ms, 10 ms de descanso, frequência de 50 Hz, 0,7 W

de potência média e diâmetro do feixe de 0,3 mm. Esses parâmetros determinam uma densidade de energia de $20,0 \text{ J/cm}^2$ (Steiner-Oliveira *et al.*, 2006). A irradiação ocorreu fazendo-se a varredura da área teste, utilizando-se uma plataforma de microscópio adaptada, para os posicionamentos X-Y, a fim de se obter uniformidade da irradiação em toda área.



Figura 4. (A) Laser de CO₂; (B) Laser de CO₂ acoplado à plataforma adaptada.

4.7 Colagem dos bráquetes

A colagem dos bráquetes (Edgiwise Slim - Slot 022 REF 10.65.203, Morelli, Nickel Free, REF 10.15.208 - São Paulo, Brasil) foi realizada pela técnica direta com o uso da Resina Composta Transbond XT (3M – Unitek BR) (Figura 5) (Anexo 2).



Fig 5. Condicionador ácido e Transbond XT

Anteriormente à colagem, realizou-se a profilaxia dos espécimes com pedra pomes e, após lavagem dos mesmos, foi realizado o condicionamento do esmalte dentário em toda a superfície, com ácido fosfórico 37% (Condac 37%, FGM - Joinville, Brasil) por 15 segundos. A seguir, foi realizada a lavagem dos espécimes e secagem com jato de ar e então, foi aplicado o sistema adesivo Transbond XT (3M, Monrovia) (Anexo 2) sobre a área condicionada, de acordo com as normas do fabricante (Anexo 3). O bráquete foi preso com uma pinça ortodôntica (Morelli, REF 75.01.022). Foi aplicada uma camada do material de colagem na base do bráquete e este, levado ao centro do espécime de esmalte humano. A fixação do bráquete foi realizada sempre pelo mesmo pesquisador, com a outra extremidade da pinça, apertando-se o bráquete contra a superfície do espécime. Após esse procedimento, foi removido o excesso do material de colagem e então feita a fotoativação do material utilizado com o fotoativador Flash Lite 1401TM (Discus Dental, Culver City – 1500 mA, 1077 mW/cm²). Um fio redondo de aço 0,018” (Morelli, REF 55.01.018) foi inserido nos bráquetes de cada lado e então, colocados elásticos que fixaram os fios (Figura 6).

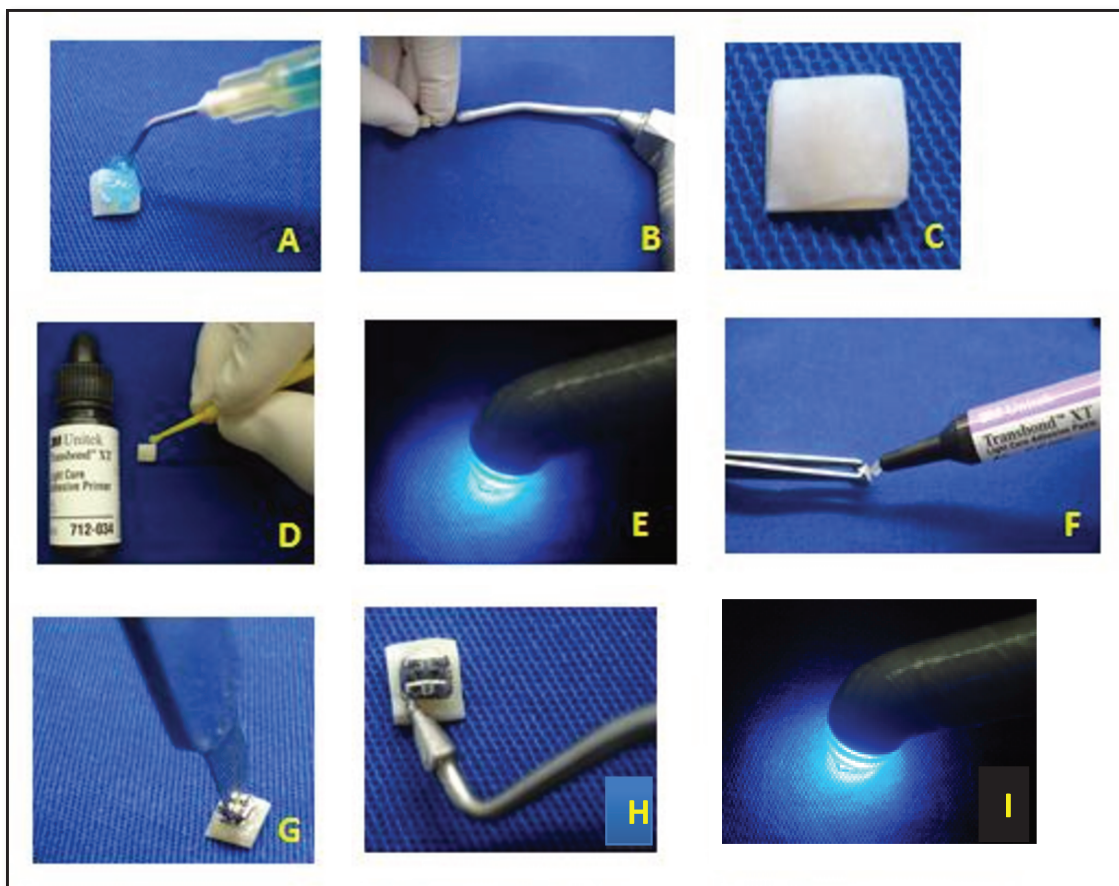


Figura 6. (A) Condicionamento ácido; (B) Lavagem e secagem; (C) Espécime condicionado; (D) Aplicação do primer; (E) Fotoativação do primer; (F) Aplicação da pasta adesiva; (G) Posicionamento do bráquete; (H) Remoção do excesso de material adesivo; (I) Fotoativação do material de colagem.

4.8 Moldagem dos voluntários e confecção dos dispositivos intraorais removíveis

Após a seleção dos voluntários, foi realizada a moldagem dos mesmos. Foram utilizadas moldeiras metálicas previamente esterilizadas, preenchidas com material de moldagem (alginato), respeitando-se as informações do fabricante a respeito da manipulação adequada do material, além do respeito às normas de biossegurança. A moldagem foi realizada apenas no arco superior e posteriormente os moldes de todos os voluntários foram preenchidos com gesso para a obtenção dos modelos.

Para cada voluntário foi confeccionado um aparelho palatino removível em resina acrílica. Quatro espécimes de esmalte, irradiados ou não, de acordo com a designação dos grupos, com os bráquetes já posicionados, foram colocados em cada aparelho, nas porções laterais do dispositivo palatino. Uma tela plástica foi colocada sobre cada espécime, deixando um espaço de 1 mm para permitir o acúmulo de biofilme (Figura 6) (Benelli *et al.*, 1993; Cury *et al.*, 2000).

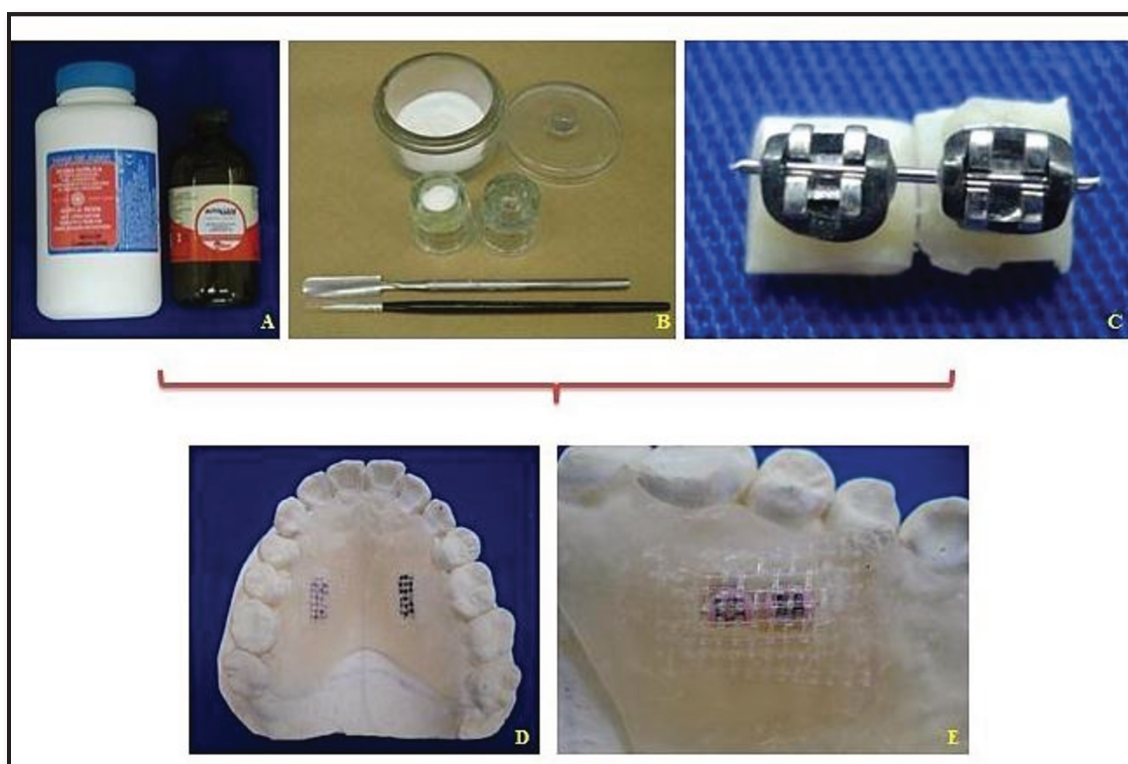


Figura 6. (A) Resina acrílica autopolimerizável; (B) Materiais utilizados para a confecção do dispositivo palatino; (C) Bráquetes colados aos espécimes; (D) dispositivo palatino montado, (E) Imagem em maior aumento da tela protetora sobre os bráquetes.

4.9 Fase intraoral

Durante os períodos de experimento e wash-out, os voluntários foram instruídos a escovarem os dentes utilizando apenas as escovas e os dentifrícios (Fórmula & Ação[®], São Paulo/SP, Brasil) fornecidos pelo pesquisador, sendo que os dentifrícios foram etiquetados com etiquetas coloridas, promovendo o cegamento do tratamento e analisados previamente ao experimento para confirmação das concentrações de flúor (Figura 7). Após os sete dias iniciais de Wash-out com o uso de dentifrício não fluoretado, todos os voluntários utilizaram os dispositivos palatinos, utilizando o dentifrício de acordado com a fase experimental previamente designada. Os voluntários foram instruídos a removerem os dispositivos e dispensarem uma gota de solução de sacarose a 20% sobre cada espécime dentário, oito vezes ao dia, em horários previamente determinados (8:00, 9:30, 11:00, 14:00, 15:30, 17:00, 19:00 e 21:00) (Pecharki *et al.*, 2005), de modo a promover uma condição de alto desafio cariogênico (Paes Leme *et al.*, 2004) Após cinco minutos, os dispositivos eram recolocados na boca. Foi orientado (apêndice 1) que os voluntários escovassem os dentes três vezes ao dia, incluindo a parte acrílica do dispositivo, tomando o cuidado de não passar as cerdas da escova sobre os espécimes, uma vez que isso poderia remover o biofilme acumulado.

Por residirem em Piracicaba, os voluntários consumiram água fluoretada (0,6 – 0,8 mg F/L). Foi orientado também que os dispositivos fossem removidos da boca apenas para escovação ou durante as refeições (Cury *et al.*, 2000). Os voluntários receberam orientação sobre a restrição em relação à ingestão de alimentos ricos em flúor, como chá verde. Também, todos receberam informações verbais e por escrito para que fosse evitado o uso de qualquer substância antibacteriana (Apêndice 1).

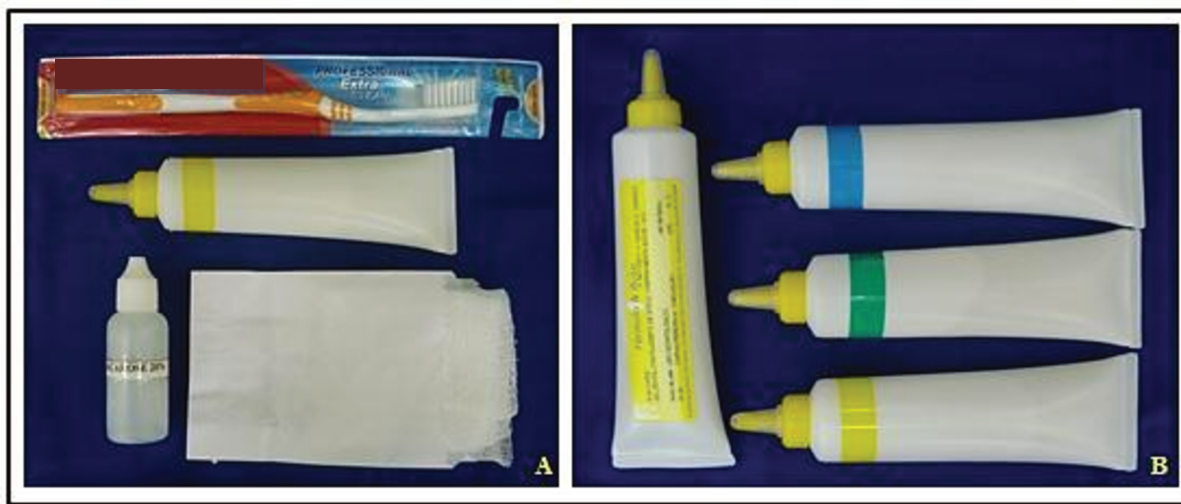


Figura 7. (A) Kit entregue aos voluntários; (B) Dentifrício com etiqueta original e ao lado, tubos codificados com etiquetas coloridas.

4.10 Análise de flúor no biofilme seco

O biofilme total, formado sobre os espécimes e ao redor dos bráquetes ortodônticos, foi coletado ao final de cada fase experimental, pesado e analisado (Figura 8). O biofilme coletado foi seco em dessecador sobre pentóxido de fósforo por 24 h. Depois de seco, as amostras foram pesadas em balança digital ($\pm 10 \mu\text{g}$). Para análise do F do biofilme dental, amostras foram tratadas com HCl 0,5 M na proporção de 1 mg biofilme por 1 mL de HCl, durante 3 horas à temperatura ambiente e sob agitação. A seguir, o ácido foi neutralizado com TISAB II pH 5 (contendo 20 g NaOH /L) na mesma proporção descrita anteriormente. Os tubos foram centrifugados, durante um minuto. A concentração de flúor no sobrenadante foi determinada utilizando-se um analisador de íons ORION EA-940 acoplado a um eletrodo específico para flúor ORION 96-09 (Figura 9), utilizando-se para a curva de calibração padrões de 0,03125 a 1,0 $\mu\text{g F/mL}$ preparados com TISAB II pH 5,0 (20 g NaOH/L) e HCl M. As leituras das amostras foram expressas em milivolt (mV) e transformadas em $\mu\text{g F/mL}$ através de regressão linear da curva de calibração (Cury *et al.*, 1997, 2000; Ribeiro *et al.*, 2005).

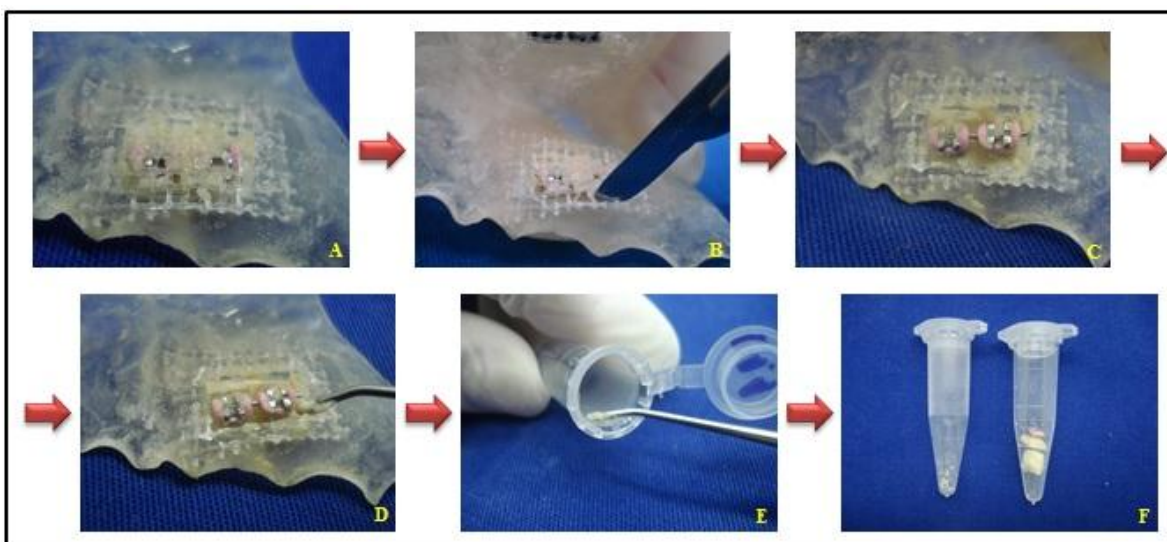


Figura 8. (A) Dispositivo após 14 dias; (B) abertura da tela com lâmina de bisturi; (C) Tela aberta, expondo o biofilme a ser coletado; (D) Coleta do biofilme; (E) Armazenamento do biofilme coletado em eppendorf previamente pesado; (F) Eppendorfs com biofilme e espécimes.



Figura 9. Analisador de íons – Análise de flúor – ORION 96-09

4.11 Preparo dos espécimes para análise de microdureza longitudinal

Após a coleta do biofilme, os espécimes foram removidos dos dispositivos intraorais e seccionados longitudinalmente, com um corte horizontal, passando pelo centro do bráquete, com o uso de um disco diamantado (Buehler, Lake Bluff, USA). Uma das metades dos espécimes foi embutida em resina acrílica em uma prensa metalográfica (embutidora), sob pressão constante de 150 kgf/cm^2 , com tempo de aquecimento de cinco minutos após ter sido atingida a temperatura de 180° C . Posteriormente ao embutimento, os discos em resina acrílica com os espécimes já embutidos foram serialmente polidos em uma lixadeira elétrica rotativa (politriz), sob refrigeração constante com água. Foram utilizados discos de carbureto de silício (SiC) e tecido de polimento como descritos a seguir (Figura 10):

Lixa grana P400 em carbureto de Silício, modelo Buehler - Met Europeia. Grão equivalente ao 320 Americano ANSI/ CAMI.	20 segundos a 230 rpm
Lixa grana P800 em carbureto de Silício, modelo Buehler - Met Europeia. Grão equivalente ao 400 Americano ANSI/ CAMI.	20 segundos a 230 rpm
Lixa grana P1200 em carbureto de Silício, modelo Buehler - Met Europeia. Grão equivalente ao 600 Americano ANSI/ CAMI.	120 segundos a 230 rpm
Lixa grana P2500 em carbureto de Silício, modelo Buehler - Met Europeia. Partículas com 10 micra de acordo com a norma FEPA - Europeia.	120 segundos a 450 rpm
Lixa grana P4000 em carbureto de Silício, modelo Microcut. Partículas com 5 micra de acordo com a norma FEPA - Europeia.	120 segundos a 450 rpm
Tecido de polimento TEXMET com suspensão de diamante monocristalino de alta concentração em base aquosa, com lubrificante, de cor verde, granulometria de 3 micra.	120 segundos a 450 rpm
Tecido de polimento TEXMET com suspensão de diamante monocristalino de alta concentração em base aquosa, com lubrificante, de cor azul, granulometria de 1 micra.	120 segundos a 450 rpm

Figura 10. Quadro descritivo da sequencia de lixas empregadas no preparo das amostras para leitura em microdurômetro.

Entre cada troca de lixas, os discos em resina foram lavados em cuba ultrassônica por cinco minutos com água deionizada e ao final da sequência de tecidos de polimento foi realizada uma lavagem final com fluido de limpeza de amostras por ultrassom (ULTRAMET 2 - diluição 6:1 em água deionizada) por cinco minutos (Figura 11).



Figura 11. (A) Espécime seccionado ao meio; (B) Embutidora; (C) Posicionamento dos espécimes e legenda na embutidora; (D) Disco de resina acrílica com espécimes embutidos; (E) Politriz; (F) Lixas utilizadas para o polimento do disco embutido.

4.12 Análise de microdureza longitudinal

Foram realizadas duas sequências de indentações sendo uma 10 μm acima do bráquete e a outra 10 μm abaixo do mesmo. Assim, foram realizadas 15 indentações (padrão em V), sendo a primeira na profundidade de 15 μm da superfície do esmalte. As indentações subsequentes foram realizadas às distâncias de 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 e 55 μm da mesma superfície. Finalizando, foram realizadas 06 indentações nas profundidades de 75, 95, 115, 135, 150 e 200 μm como ilustrado no diagrama (Figura 10). Para a análise de microdureza foi empregado um microdurômetro modelo Future-Tech FM (Future-Tech Corp., Tóquio, Japão) acoplado a um software FM-ARS (Future-Tech Corp.) e o penetrador tipo Knoop, com carga de 25 g por 5 s.

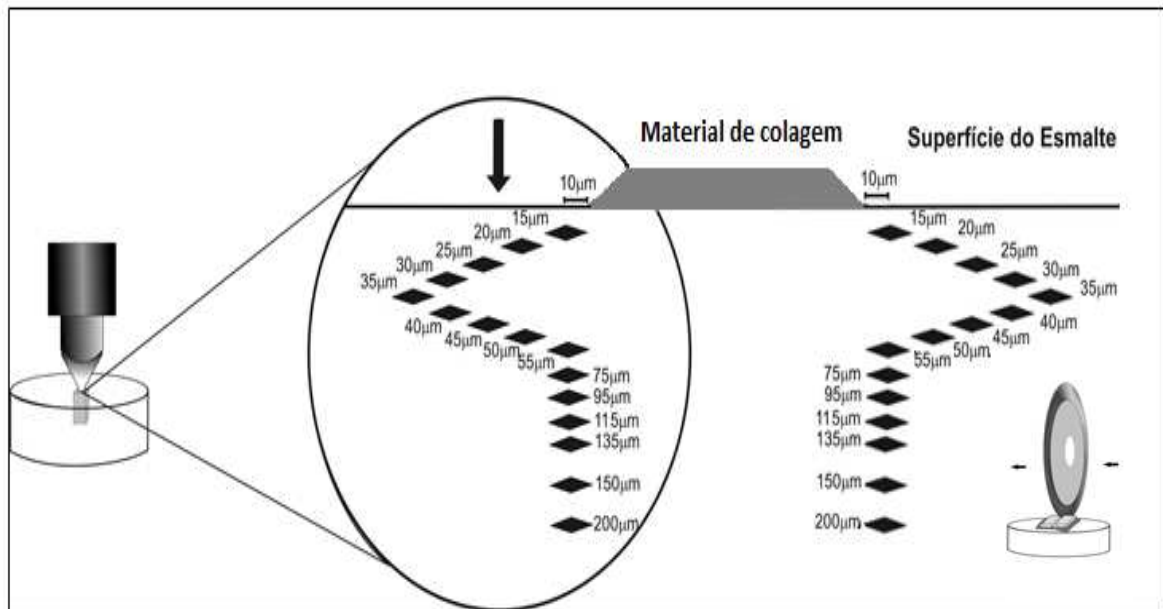


Figura 10. Ilustração representativa das indentações a serem realizadas nos espécimes durante a análise de microdureza.



Fig 12. (G) Microdurômetro; (H) Imagem da leitura de microdureza.

4.13 Preparo dos espécimes para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os espécimes embutidos em resina acrílica foram armazenados em um recipiente contendo sílica, em estufa a 37°C por um período de 24 horas após o que, foram submetidos ao processo de metalização, sendo então cobertas com fina camada de ouro (10-12nm de espessura) no metalizador (Desk II, Denton Vacuum Inc., NJ, EUA). Os espécimes metalizados foram analisados utilizando-se o Microscópio Eletrônico de Varredura JSM 5600LV (JEOL, Tóquio, Honshu, Japão) com 15 kV operando com aumentos de 300, 500, 1000, 1500 e 2000 vezes.

4.14 Análise estatística

Para avaliar os efeitos dos tratamentos, foi analisada a perda mineral, tendo os tratamentos do esmalte como fontes de variação. Os fatores a serem incluídos na análise foram voluntários, primeira e segunda fases e tratamentos.

Em relação à concentração de flúor no biofilme seco, foi feita a verificação da normalidade dos dados por meio do teste de Lilliefors, sendo que os dados não se mostraram com distribuição normal, mesmo após transformação. Posteriormente, procedeu-se com a análise estatística para avaliar a existência de diferenças entre os grupos, realizando-se o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Student Newman Keuls utilizando-se o software Bioestat 5.0 (Ayres, 2007). Os resultados da perda mineral foram analisados pelo teste de Lilliefors para verificação da normalidade dos dados seguido do teste ANOVA.

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação da concentração de flúor no biofilme seco

Na tabela 1 são apresentados os resultados das concentrações de fluoreto no biofilme seco após experimento *in situ*, de acordo com os tratamentos. O teste de Lilliefors evidenciou que os dados não eram normais, mesmo após transformação. Assim, utilizou-se o teste de Kruskal Wallis seguido do teste de Student Newman Keuls, com nível de significância estabelecido em $p < 0,05$.

A análise da tabela mostra que a concentração de fluoreto foi significativamente maior no biofilme formado sobre/ao redor dos espécimes dos grupos 3 (Adesivo + DF) e 4 (Laser de CO₂ + Adesivo + DF) do que no biofilme formado sobre/ao redor dos espécimes dos grupos 1 e 2.

Tabela 1. Concentração de flúor no biofilme dental segundo os grupos experimentais

Grupos	µg F/mg – mediana/variância
(1) Adesivo + DNF	4,58/21,19 ^a
(2) Laser de CO ₂ + Adesivo + DNF	4,88/57,03 ^a
(3) Adesivo + DF	47,79/182,53 ^b
(4) Laser de CO ₂ + Adesivo + DF	28,85/299,58 ^b

Letras diferentes indicam diferença estatística, verificada por meio do teste de Student Newman Keuls, $\alpha = 0,05$.

5.2 Avaliação da perda mineral do esmalte

A tabela 2 mostra as médias e os desvios padrão do número de Dureza Knoop do esmalte de acordo com os grupos. Pela análise desta tabela, é possível observar que não houve diferença significativa entre os grupos ($p = 0,2491$).

Tabela 2. Médias e desvios padrão do valor de dureza Knoop segundo os grupos experimentais

Grupos	Dureza Knoop – média/Desvio Padrão
(1) Adesivo + DNF	326,87 / $\pm 30,60^a$
(2) Laser de CO ₂ + Adesivo + DNF	328,138 / $\pm 33,04^a$
(3) Adesivo + DF	324,8 / $\pm 24,41^a$
(4) Laser de CO ₂ + Adesivo + DF	331,6 / $\pm 35,91^a$

Letras iguais indicam ausência de diferença estatística, verificada por meio do teste ANOVA, $\alpha = 0,05$.

A seguir, no gráfico 1 observa-se a representação gráfica dos valores das médias de Dureza Knoop de acordo com os grupos.

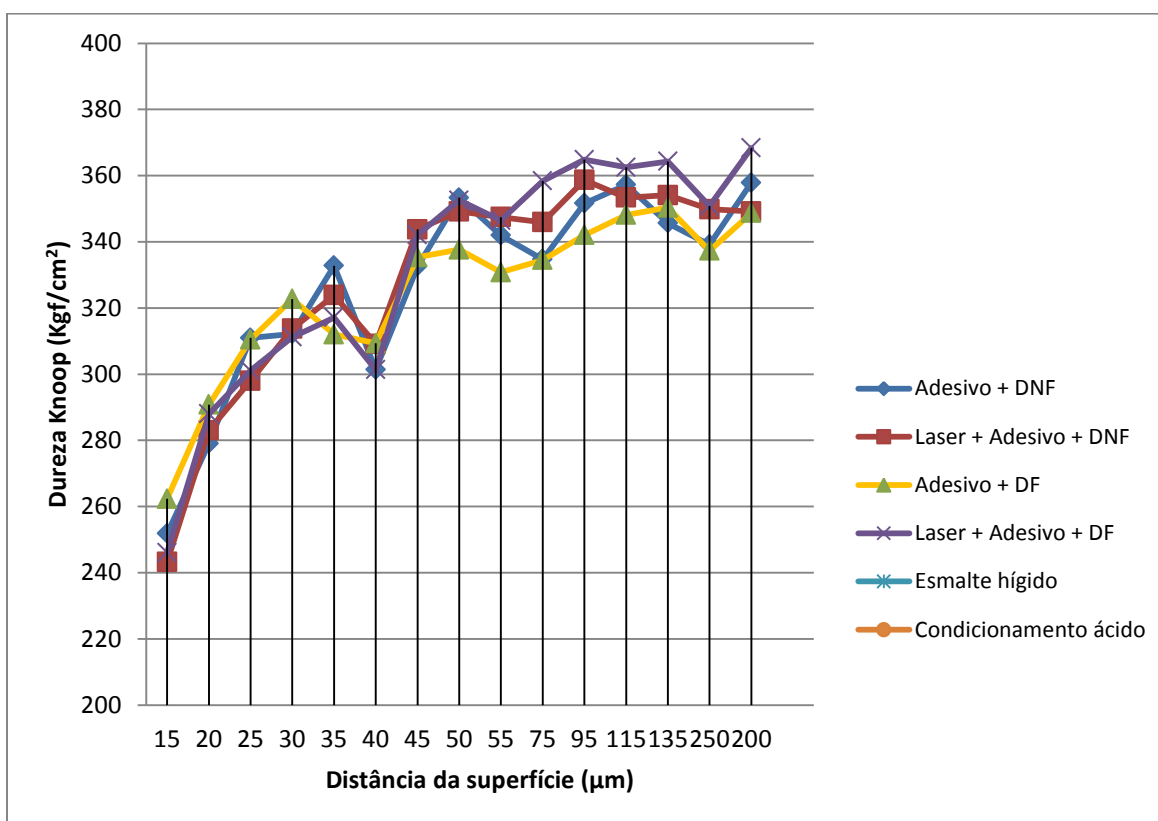


Gráfico 1. Médias de Dureza Knoop dos grupos experimentais em relação às diferentes profundidades avaliadas.

6 DISCUSSÃO

A prevenção da desmineralização ao redor de bráquetes ortodônticos é um assunto de extrema importância, uma vez que este quadro é encontrado ao final do tratamento ortodôntico em mais de 50% dos pacientes (Gorelick *et al.*, 1982; Banks *et al.*, 1997; Boersma *et al.*, 2005; Øgaard *et al.*, 2001, Basdra *et al.*, 1996). Este estudo foi delineado, seguindo um modelo *in situ*, de modo a simular as condições intraorais de pacientes em tratamento ortodôntico e, ainda, avaliar a associação entre o uso de um sistema adesivo ortodôntico, a irradiação do esmalte com o laser de CO₂ e o uso de dentifrício fluoretado (1100 ppm F).

Os resultados desta pesquisa mostraram que a concentração de flúor no biofilme entre os grupos esteve de acordo com o esperado, uma vez que nos grupos em que foi utilizado o dentifrício fluoretado, a concentração deste íon foi significativamente maior do que nos grupos em que foi empregado o dentifrício não fluoretado. Este resultado era esperado, uma vez que durante o tratamento ortodôntico ocorre um grande acúmulo de biofilme dental ao redor dos bráquetes ortodônticos (Maxfield *et al.*, 2012) e é sabido que o fluoreto tem grande afinidade pelos componentes orgânicos e inorgânicos da placa dental (Whitford *et al.*, 2002). Este mecanismo favorece a retenção deste íon no biofilme dental, o que promove um aumento na concentração de fluoreto no biofilme por várias horas (Pessan *et al.*, 2010; 2008; 2006) e sua liberação durante os desafios cariogênicos a que os voluntários foram submetidos nesta pesquisa (sacarose a 20%, oito vezes ao dia), que estima-se serem frequentes nos pacientes que fazem uso de aparelhos ortodônticos. Da mesma forma, Whitford *et al.* (2002; 2005) sugeriram que altos níveis de fluoreto na saliva, após a utilização de dentifrício fluoretado, promoveriam a formação de compostos como CaF⁺/CaF₂, que se acumulariam principalmente nas camadas mais externas do biofilme dental.

Esperava-se que houvesse o aumento da concentração de fluoreto no biofilme dos espécimes irradiados, uma vez que estudos previamente realizados demonstraram que a irradiação do esmalte dental com laser de CO₂ promove modificações morfológicas na superfície do esmalte, como derretimento e fusão, aumentando a formação de CaF₂ (Tepper

et al., 2004; Zancopé, 2011). Este fluoreto de cálcio funcionaria como um reservatório de fluoreto para repor este íon em situações de baixo pH, quando ocorre a dissolução deste CaF_2 e assim, liberação de cálcio e flúor, o que pode ter contribuído para o aumento do íon flúor no biofilme coletado (Rølla, 1988; Zancopé, 2011).

Em relação à desmineralização do esmalte, os resultados desta pesquisa mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 2). Este resultado nos surpreendeu, pois a literatura é unânime em apontar os efeitos dos dentifrícios fluoretados na redução da prevalência de cárie observada nas últimas décadas nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (Marinho, 2009; Walsh *et al.* 2010). A análise da tabela 2 evidencia também, que a irradiação do esmalte ao redor do bráquete ortodôntico não teve nenhum efeito sobre a perda mineral do esmalte mediante o desafio cariogênico empregado nesta pesquisa. Este resultado contraria aquele observado *in vitro* por Souza e Silva *et al* (2013) que concluíram que o laser de CO_2 mostrou-se efetivo em reduzir a perda mineral do esmalte ao redor do bráquete ortodôntico, quando combinado ou não com um material de colagem liberador de flúor. Por outro lado, a ausência de diferença entre os grupos demonstra que a redução da perda mineral observada no presente estudo ocorreu apenas devido ao efeito do sistema adesivo. A análise do gráfico 1 mostra que em todos os grupos ocorreu perda mineral, até a profundidade de aproximadamente 40 μm . No entanto, os dados apresentados no gráfico 1 (apêndice 2) deixam claro esta perda mineral foi consequência do condicionamento ácido do esmalte, um procedimento que antecedeu a aplicação do sistema adesivo. Outra evidência do efeito do adesivo na redução da desmineralização do esmalte pode ser observada pela análise das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) que evidenciam a presença de material adesivo sobre o esmalte dentário, que pode ter agido como uma barreira física à desmineralização (Figuras 12, 13, 14 e 15).

Quando do emprego do adesivo na presente pesquisa, tentou-se reproduzir a conduta clínica empregada quando da colagem dos bráquetes ortodônticos, na qual não é feita a delimitação da área a ser condicionada, para posterior aplicação do sistema adesivo. Assim, uma possível explicação aos achados deve-se ao fato de que a camada de adesivo

utilizada para a colagem dos bráquetes possa ter agido como uma barreira física à desmineralização, uma vez que o delineamento empregado não previa escovação sobre os espécimes/bráquetes e este conjunto estava protegido por uma tela para favorecer o acúmulo do biofilme ao redor dos bráquetes durante o período experimental.

Além disso, neste estudo foi utilizado o modelo *in situ* como método de simulação das condições intraorais de pacientes em tratamento ortodôntico. O estudo de de Souza-e-Silva *et al.* (2012) obteve resultados satisfatórios em relação à formação de lesão de manchas brancas nos espécimes dentais, entretanto, os autores realizaram um estudo *in vitro*, utilizando o modelo microbiológico como desafio cariogênico. Além disso, no estudo citado, os espécimes eram imersos apenas em solução desmineralizadora, não havendo período de remineralização do esmalte dental. Neste estudo *in situ*, os espécimes eram expostos à saliva dos pacientes e assim, passavam por condições de desmineralização e remineralização.

No estudo de Gorton *et al.* (2003) os autores utilizaram o modelo *in vivo* e concluíram que a lesão de mancha branca foi detectada apenas após 4 semanas, o que corresponde a um período superior ao utilizado neste experimento. Sendo assim, existe a possibilidade de que os 14 dias de cada fase possam ter sido tempo insuficiente para que ocorresse uma perda mineral possível de ser diferenciada. Entretanto, o estudo *in situ* realizado por Duggal *et al.* (2001) avaliaram a desmineralização do esmalte, quando sob exposição de sacarose a 12% por 3, 5, 7 ou 10 vezes ao dia e concluíram que numa frequência de exposição à sacarose a 12% de 7 ou 10 vezes ao dia, a progressão da desmineralização foi passível de ser observada após 5 dias de estudo, mesmo no grupo que utilizou o dentifrício fluoretado.

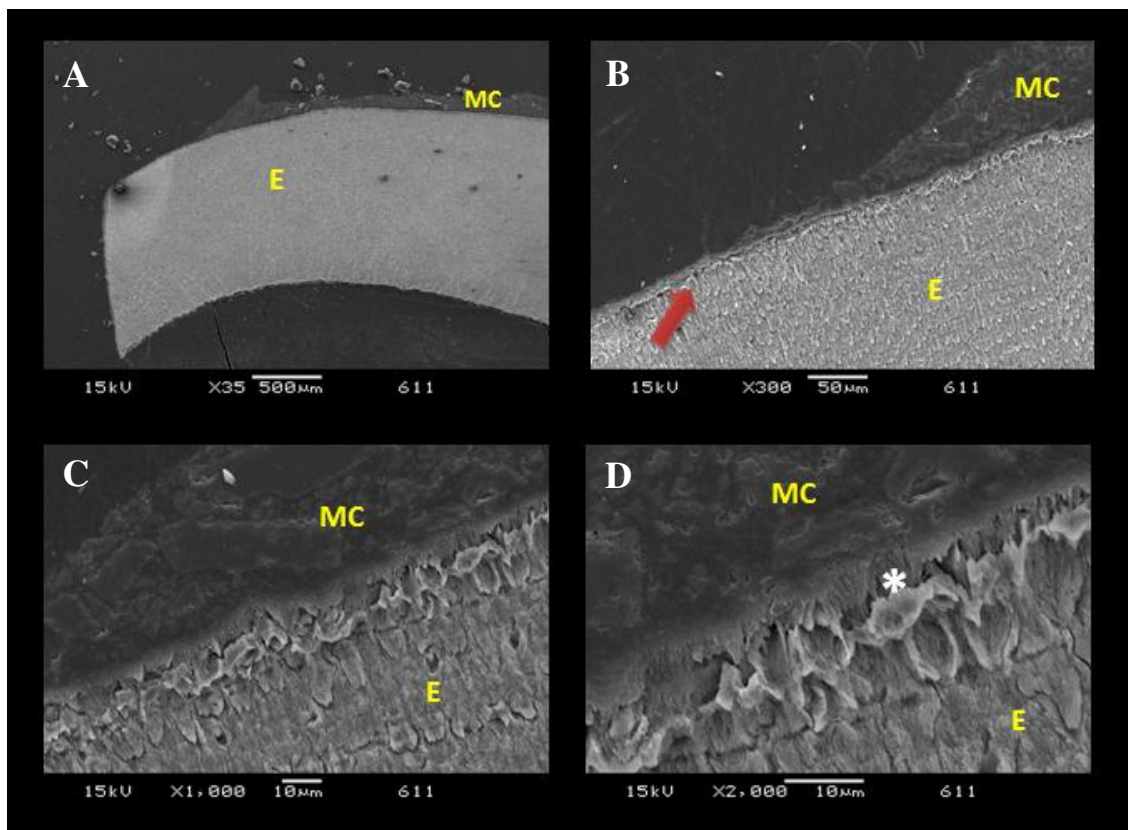


Figura 12. Imagens representativas do grupo controle (Adesivo + DNF), obtidas por MEV. E= Esmalte, MC= Material de Colagem; *= tags resinosos. (A, B, C, D) Imagens representativas dos espécimes dentais. (B) A seta vermelha indica o excesso de material de colagem agindo como uma barreira física à desmineralização. .

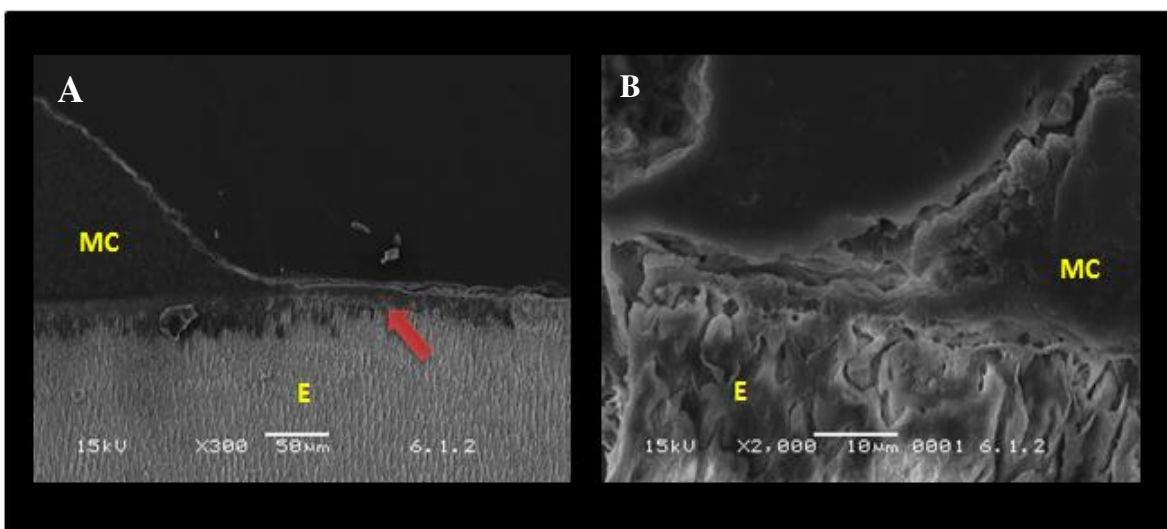


Figura 13. Imagens representativas do grupo 2 (Laser de CO₂ + DNF), obtidas por MEV. (A, B) Imagens representativas dos espécimes dentais. A seta vermelha indica o excesso de material adesivo sobre o esmalte.

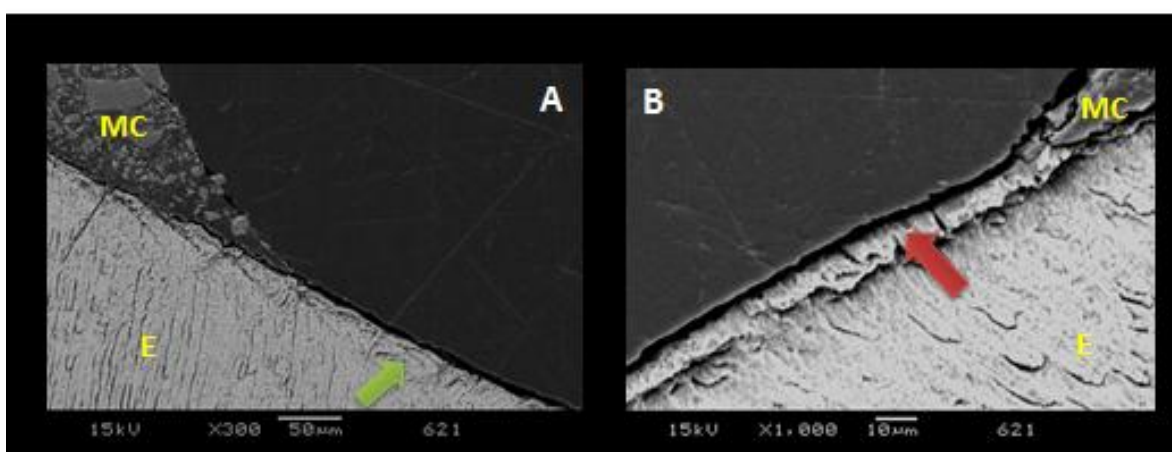


Figura 14. Imagens representativas do grupo 3 (Adesivo + DF), obtidas por MEV. A seta verde indica o derretimento causado pela irradiação do esmalte com o laser e a seta vermelha indica o excesso de material adesivo sobre o esmalte

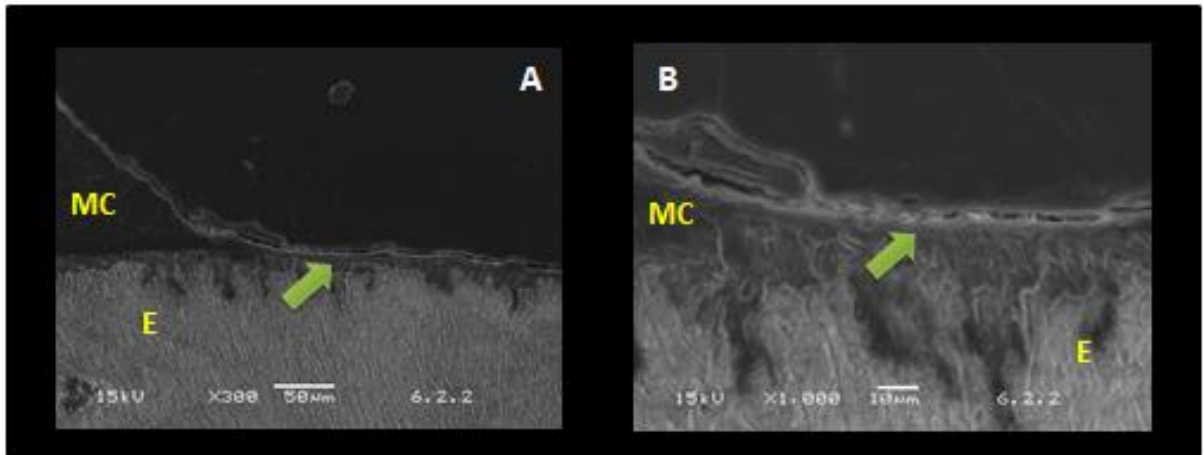


Figura 15. Imagens representativas do grupo 4 (Laser de CO₂ + Adesivo + DF), obtidas por MEV. A seta verde indica o derretimento causado pela irradiação do esmalte com o laser e a seta vermelha indica o excesso de material adesivo sobre o esmalte

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:

- Tanto a irradiação do esmalte com laser de CO₂ quanto o emprego do dentifrício fluoretado não mostraram efeito em reduzir a desmineralização do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos nas condições empregadas no estudo.

REFERÊNCIAS*

Adams RJ. The effects of fixed orthodontic appliances on the cariogenicity, quantity and microscopic morphology of oral lactobacilli. *J Oral Med.* 1967; 22(3): 88-99.

Al Maaitah EF, Adeyemi AA, Higham SM, Pender N, Harrison JE. Factors affecting demineralization during orthodontic treatment: a post-hoc analysis of RCT recruits. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011; 139(2): 181-91.

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(10): 809-13.

Antonucci J M, Mackinney JE, Stansbury JW. Resin-modified glass ionomer cement. US Patent Application. 1988; 856: 7-160.

Artun J, Brobakken BO. Prevalence of carious white spots after orthodontic treatment with multibonded appliances. *Eur J Orthod.* 1986; 8(4): 229-34.

Ayres M, Ayres Jr M; Ayres DL, Santos AS. *BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.* Belém: MCT; IDSM; CNPq, 2007. 364.

Baeshen HA, Lingström P, Birkhed D. Effect of fluoridated chewing sticks (Miswaks) on white spot lesions in postorthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011; 140(3): 291-7.

Banks PA, Burn A, O'Brien K. A clinical evaluation of the effectiveness of including fluoride into an orthodontic bonding adhesive. *Eur J Orthod.* 1997; 19(4): 391-5.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Basdra EK, Huber H, Komposch G. Fluoride released from orthodontic bonding agents alters the enamel surface and inhibits enamel demineralization *in vitro*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1996; 109(5): 466-72.

Benelli EM, Serra MC, Rodrigues AL Jr, Cury JA. *In situ* anticariogenic potential of glass ionomer cement. Caries Res. 1993; 27(4): 280-4.

Benson PE, Pender N, Higham SM. An *in situ* caries model to study demineralization during fixed orthodontics. Clin Orthod Res. 1999; 2(3): 143-53.

Benson PE, Shah AA, Millett DT, Dyer F, Parkin N, Vine RS. Fluorides, orthodontics and demineralization: a systematic review. J Orthod. 2005; 32(2): 102-14.

Bertoz FA, Komatsu J, Okida RC, Mendonça MR. Ionômero de vidro como meio cimentante de bráquetes. Ortodontia. 1991; 24(1): 41-3.

Bloom RH, Brown LR Jr. A study of the effects of orthodontic appliances on the oral microbial flora. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1964; 17: 658-67.

Boersma JG, van der Veen MH, Lagerweij MD, Bokhout B, Prahl-Andersen B. Caries prevalence measured with QLF after treatment with fixed orthodontic appliances: influencing factors. Caries Res. 2005; 39(1): 41-7.

Borggreven JM, van Dijk JW, Driessens FC. Effect of laser irradiation on the permeability of bovine dental enamel. Arch Oral Biol. 1980; 25(11-12): 831-2.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res. 1955; 34(6): 849-53.

Chang HS, Walsh LJ, Freer TJ. Enamel demineralization during orthodontic treatment. Aetiology and prevention. Aust Dent J. 1997; 42(5): 322-7.

Chin-Ying SH, Xiaoli G, Jisheng P, Wefel JS. Effects of CO₂ laser on fluoride uptake in enamel. J Dent. 2004; 32(2): 161-7.

Clarkson IJ, Hardwick K, Barmes D. International collaborative research on fluoride. J Dent Res. 2000; 79(4): 893-904.

Cochrane NJ, Zero DT, Reynolds EC. Remineralization models. Adv Dent Res. 2012; 24(2): 129-32.

Cohen WJ, Wiltshire WA, Dawes C, Lavelle CL. Long-term in vitro fluoride release and rerelease from orthodontic bonding materials containing fluoride. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2003; 124(5): 571-6.

Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: a science and instruments. Dent Clin N Am. 2004; 48(4): 751-70.

Consolaro A, Consolaro MFM. Lesões cariosas incipientes e formação de cavidades durante o tratamento ortodôntico. Rev. Clín. Ortodon. Dental Press. 2006; 5(4): 104-11.

Corrêa DP, Valeski A Jr., Oliveira OMMF, Sakima T. Correlation among buffer capacity, pH, and the active of peroxidase enzyme in orthodontic patients, as elements of oral health maintenance. JBC. 1997; 2(10): 13-7.

Corrêa-Afonso AM, Bachmann L, Almeida CG, Corona SA, Borsatto MC. FTIR and SEM analysis of CO₂ laser irradiated human enamel. Arch Oral Biol. 2012; 57(9): 1153-8.

Cury JA, Rebelo MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP. Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res.* 2000; 34(6): 491-7.

Cury JA. Flúor: dos 8 aos 80? In: Bottino MA, Feller C, coordenadores. Atualização na clínica odontológica. São Paulo: Artes Médicas, 1992. p. 375-82.

Cury JA. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: Baratieri LN, Monteiro Jr.S, Andrada MAC, Vieira LCC, Ritter AV, Cardoso AC. Odontologia Restauradora – Fundamentos e possibilidades. São Paulo: Santos, 2001. p. 31-68.

da Silva Tagliaferro EP, Rodrigues LK, Soares LE, Martin AA, Nobre-dos-Santos M. Physical and compositional changes on demineralized primary enamel induced by CO₂ laser. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27(4): 585-90.

Darling AI. Studies of the early lesion of enamel caries with transmitted light, polarised light and radiography. Part II. *Br Dent J.* 1956; 101: 324-41.

de Souza-E-Silva CM, Parisotto TM, Steiner-Oliveira C, Kamiya RU, Rodrigues LK, Nobre-Dos-Santos M. Carbon dioxide laser and bonding materials reduce enamel demineralization around orthodontic brackets. *Lasers Med Sci.* 2013; 28(1): 111-8.

Doherty UB, Benson PE, Higham SM. Fluoride-releasing elastomeric ligatures assessed with the *in situ* caries model. *Eur J Orthod.* 2002; 24(4): 371-8.

Esteves-Oliveira M, Zetzell DM, Meister J, Franzen R, Stanzel S, Lampert F, *et al.* CO₂ laser (10.6 microm) parameters for caries prevention in dental enamel. *Caries Res* 2009; 43(4): 261–8.

Featherstone JDB, Zhang SH, Shariati M, McCormack SM. Carbon dioxide laser effects on caries-like lesions of dental enamel. Lasers in orthopedic, dental and veterinary medicine. Bellingham: SPIE 1991. Proceedings of SPIE, 1991; 1424: 145-9.

Featherstone JDB. The caries balance: contributing factors and early detection. J Calif Dent Assoc. 2003; 31(2): 129-33.

Featherstone JDB. The continuum of dental caries – evidence for a dynamic disease process. J Dent Res 2004; 83 Spec No C: C39-42. Review.

Featherstone JDB, Barret-Vesponne 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, Fried D, Gansky SA, Stookey GK, Dunipace A. Effect of carbon dioxide laser treatment on lesion progression in an intra-oral model. Lasers in Dent. SPIE VII. 2001; 4249: 87-91.

Featherstone JDB, Nelson DGA. Laser effects on dental hard tissues. Adv Dent Res 1987; 1(1): 21-6.

Featherstone JDB. Caries detection and prevention with laser energy. Dent Clin North Am. 2000; 44(4): 955-69.

Fejerskov O, Nyvad B, Kidd EAM. Clinical and histological manifestation of dental caries. Ed Blackwell Munksgaard Oxford UK. 2003; 80-86.

Ferreira JM, Palamara J, Phakey PP, Rachinger WA, Orams HJ. Effects of continuous-wave CO₂ laser on the ultrastructure of human dental enamel. Arch Oral Biol. 1989; 34(7): 551-62.

Fjeld M, Øgaard B. Scanning electron microscopic evaluation of enamel surfaces exposed to 3 orthodontic bonding systems. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2006; 130(5): 575-81.

Frentzen M, Koort HJ. Lasers in dentistry: new possibilities with advancing laser technology? *Int Dent J*. 1990; 40(6): 323-32.

Fried D, Glana RE, Featherstone JD, Seka W. Permanent and transient changes in the reflectance of CO₂ laser-irradiated dental hard tissues at $\lambda = 9.3, 9.6, 10.3$, and 10.6 microns and at fluences of $1-20 \text{ J/cm}^2$. *Lasers Surg Med*. 1997; 20(1): 22-31.

Fried D, Visuri SR, Featherstone JD, Walsh Jr JT, Seka WD, Glana RE, *et al*. Infrared radiometry of dental enamel during Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation. *J Biomed Opt*. 1996. 1(4):455-65

Gameiro GH, Nouer DF, Cenci MS, Cury JA. Enamel demineralization with two forms of archwire ligation investigated using an *in situ* caries model-a pilot study. *Eur J Orthod*. 2009; 31(5): 542-6.

Geiger AM, Gorelick L, Gwinnett AJ, Benson BJ. Reducing white spot lesions in orthodontic populations with fluoride rinsing. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1992; 101(5): 403-7.

Gimbel CB. Hard tissue laser procedures. *Dent Clin North Am*. 2000; 44(4): 931-53.

González M, Banderas JA, Rodríguez V, Castaño VM. Particle-induced X-ray emission and scanning electron microscopic analyses of the effects of CO₂ laser irradiation on dentinal structure. *J Dent*. 1999; 27(8): 595-600.

Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod*. 1982; 81(2): 93-8.

Gorton J, Featherstone JD. *In vivo* inhibition of demineralization around orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003; 123(1): 10-4.

Hara AT, Queiroz CS, Freitas PM, Giannini M, Serra MC, Cury JA. Fluoride release and secondary caries inhibition by adhesive systems on root dentine. *Eur J Oral Sci*. 2005; 113(3): 245-50.

Hsu CY, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. *J Dent Res* 2000; 79(9): 1725-30.

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

Kantola S, Laine E, Tarna T. Laser-induced effects on tooth structure. VI. X-ray diffraction study of dental enamel exposed to a CO₂ laser. *Acta Odontol Scand*. 1973; 31(6): 369-79.

Kantola S. Laser-induced effects on tooth structure. V. Electron probe microanalysis and polarized light microscopy of dental enamel. *Acta Odontol Scand*. 1972; 30(4): 475-84.

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.

Klein AL, Rodrigues LK, 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.

Kukleva MP, Shetkova DG, Beev VH. Comparative age study of the risk of demineralization during orthodontic treatment with brackets. *Folia Med (Plovdiv)*. 2002; 44(1-2): 56-9.

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

Longbottom C; Pitts NB. CO₂ laser and the diagnosis of occlusal caries: *in vitro* study. *J Dent* 1993; 21(4): 234-9.

Lovrov S, Hertrich K, Hirschfelder U. Enamel demineralization during fixed orthodontic treatment - Incidence and correlation to various oral-hygiene parameters. *J Orofac Orthop* 2007; 68(5): 353-63.

Lussi A, Imwinkelried S, Longbottom C, Reich E. Performance of a laser fluorescence system for detection of occlusal caries *in vitro*. *Caries Res*. 1999; 33(4): 261-6.

Marinho VC. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2009; 10(3): 183-91. Review.

Maxfield BJ, Hamdan AM, Tüfekçi E, Shroff B, Best AM, Lindauer SJ. Development of white spot lesions during orthodontic treatment: perceptions of patients, parents, orthodontists, and general dentists. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2012; 141(3): 337-44.

McNeill CJ, Wiltshire WA, Dawes C, Lavelle CL. Fluoride release from new light-cured orthodontic bonding agents. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2001; 120(4): 392-7.

Mercer C. Lasers in dentistry: a review. Part I. *Dent Update*. 1996; 23(2): 74-80.

Meurman JH, Voegel JC, Rauhamaa-Mäkinen R, Gasser P, Thomann JM, Hemmerle J *et al.* Effects of carbon dioxide, Nd:YAG and carbon dioxide-Nd:YAG combination lasers at high energy densities on synthetic hydroxyapatite. *Caries Res.* 1992; 26(2): 77-83.

Mitchell L. Decalcification during orthodontic treatment with fixed appliances—an overview. *Br J Orthod* 1992; 19(3): 199-205.

Mizrahi E. Enamel demineralization following orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1982; 82(1): 62-7.

Nalbantgil D, Oztoprak MO, Cakan DG, Bozkurt K, Arun T. Prevention of demineralization around orthodontic brackets using two different fluoride varnishes. *Eur J Dent.* 2013; 7(1): 41-7.

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.

Nelson DGA, Wefel JS, Jongebloed WL, Featherstone JDB. Morphology, histology and crystallography of human dental enamel treated with pulsed low-energy infrared laser radiation. *Caries Res.* 1987; 21(5): 411-26.

Newman GV. Epoxy adhesives for orthodontic attachments: progress report. *Am J Orthod,* 1965; 51(2): 901-12.

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

Nobre dos Santos M, Fried D, Rapozo-Hilo M, Featherstone JDB. Effect of a new carbon dioxide laser and fluoride on occlusal caries progression in dental enamel. *Lasers in Dentistry VIII SPIE*. 2002; 4610: 132-9.

O'Reilly MM, Featherstone JDB. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an *in vivo* study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1987; 92(1): 33-40.

Øgaard B, Larsson E, Henriksson T, Birkhed D, Bishara SE. Effects of combined application of antimicrobial and fluoride varnishes in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2001 Jul; 120(1): 28-35.

Øgaard B, Rezk-Lega F, Ruben J, Arends J. Cariostatic effect and fluoride release from a visible light-curing adhesive for bonding of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1992 Apr; 101(4): 303-7.

Øgaard B, Rølla G. The *in vivo* orthodontic banding model for vital teeth and the *in situ* orthodontic banding model for hard-tissue slabs. *J Dent Res*. 1992; 71 Spec No: 832-5. Review.

Øgaard B. Prevalence of white spot lesions in 19-year-olds: a study on untreated and orthodontically treated persons 5 years after treatment. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 1989; 96(5): 423-7.

Øgaard B, Rølla G, Arends J, ten Cate JM. Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 2. Prevention and treatment of lesions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1988;94 (2): 123-8.

Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CP, 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 Dent Res. 2004; 83(1): 71-5.

Pecharki GD, Cury JA, Paes Leme AF, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Rosalen PL. Effect of sucrose containing iron (II) on dental biofilm and enamel demineralization *in situ*. Caries Res. 2005; 39(2): 123-9.

Pessan JP, Alves KM, Ramires I, Taga MF, Sampaio FC, Whitford GM, Buzalaf MA. Effects of regular and low-fluoride dentifrices on plaque fluoride. J Dent Res. 2010; 89(10): 1106-10.

Pessan JP, Silva SM, Lauris JR, Sampaio FC, Whitford GM, Buzalaf MA. Fluoride uptake by plaque from water and from dentifrice. J Dent Res. 2008; 87(5): 461-5.

Pinto CF, Paes-Leme AF, Ambrosano GM, Giannini M. *In vitro* secondary caries inhibition by adhesive systems in enamel around composite restorations. Oper Dent. 2010; 35(3): 345-52.

Pessan JP, Sicca CM, de Souza TS, da Silva SM, Whitford GM, Buzalaf MA. Fluoride concentrations in dental plaque and saliva after the use of a fluoride dentifrice preceded by a calcium lactate rinse. Eur J Oral Sci. 2006; 114(6): 489-93

Piton MM, Oliveira MV, Santos RL, Bolognese AM, Ruellas ACO. *In vitro* evaluation of shear bond strength and fluoride release from two resin-reinforced glass ionomer cements. Rev. Odonto ciênc. 2007; 22(58): 305-10.

Pitts NB. Modern concepts of caries measurement. J Dent Res 2004; 83 Spec n° C: C43-7.

Ribeiro JS, Ferreira GS, Brancher JA, Ignácio AS, Camargo ES. A variação de cálcio, amilase, glicose, proteínas totais, fluxo, pH e capacidade de tamponamento da saliva de pacientes em tratamento ortodôntico interceptativo. Rev Clin Ortod Dental Press. 2012; 11(2): 96-100.

Richter AE, Arruda AO, Peters MC, Sohn W. Incidence of caries lesions among patients treated with comprehensive orthodontics. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2011; 139(5): 657-64.

Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. Crit Rev Oral Biol Med. 2000; 11(4): 481-95.

Rodrigues LKA, Steiner-Oliveira C, Nobre-dos-Santos M. O emprego do laser de CO₂ no controle da cárie dentária. Rev Odonto Ciênc. 2007; 22(58):346-51.

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

Rodrigues LK, Cury JA, Nobre dos Santos M. The effect of gamma radiation on enamel hardness and its resistance to demineralization in vitro. J Oral Sci. 2004; 46(4): 215-20.

Rodrigues LKA, Nobre-dos-Santos M, Pereira D, Assaf AV, Pardi V. Carbon dioxide laser in dental caries prevention. J Dent 2004; 32(7): 531-40.

Rogers S, Chadwick B, Treasure E. Fluoride-containing orthodontic adhesives and decalcification in patients with fixed appliances: a systematic review. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2010;138 (4): 390. e1-8. Review.

Rølla G. On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. Acta Odontol Scand. 1988; 46(6): 341-5. Review.

Rosembloom RG & Tinanoff N. Salivary *Streptococcus mutans* levels in patients before, during and after orthodontic treatment. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1991; 100(1): 35-7.

Shahabi S, Walsh LJ. Effect of bonding agents on adhesion of composite resin following CO₂ laser etching of dental enamel. J Clin Laser Med Surg. 1996; 14(4): 169-73.

Shannon IL. Prevention of decalcification in orthodontic patients. J Clin Orthod. 1981; 15: 694-706.

Sonis AL, Snell W. An evaluation of a fluoride-releasing, visible light-activated bonding system for orthodontic bracket placement. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1989; 95(4): 306-11.

Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. Oral Sci Rev 1973; 3: 100-60.

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; 9(2): 113-21.

Steiner-Oliveira C, Rodrigues LKA, Soares LES, Martin AA, Zezell DM, Nobre-Dos-Santos M. Chemical, Morphological and Thermal Effects of 10.6 µm CO₂ laser on the Inhibition of Enamel Demineralization. Dent Mater J. 2006; 25(3): 455-62.

Stern RH, Vahl J, Sognnaes RF. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. J Dent Res. 1972;51(2): 455-60.

Stern RH, Sognnaes RF, Goodman F. Laser effect on *in vitro* enamel permeability and solubility. J Am Dent Assoc. 1966; 73(4): 838-43.

Stern RH, Sognnaes RF. Laser beam effect on dental hard tissues. J Dent Res. 1964; 43(5): 873.

Suckontapartik W, El-Agroudi MA, Selliseth NJ, Thunold K, Selvig KA. Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances. A scanning electron microscopy study. Eur J Orthod. 2001; 23(5): 475-84.

Sudjalim TR, Woods MG, Manton DJ, Reynolds EC. Prevention of demineralization around orthodontic brackets *in vitro*. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2007; 131(6): 705.e1-9.

Tagliaferro EPS, Rodrigues LKA, Nobre-dos-Santos M, Soares LES, Martin AA. Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralized primary enamel: an *in vitro* study. Caries Res 2007; 41(1): 74-6.

Tavas MA, Watts DC. Bonding of orthodontic brackets by transillumination of a light activated composite: an *in vitro* study. Br J Orthod. 1979;6(4): 207-8.

Teixeira HS, Kaulfuss SMO, Ribeiro JS, Pereira BR, Brancher JA, Camargo ES. Calcium, Amylase, glucose, total protein concentrations, flow rate, pH and buffering capacity of saliva in patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances. Dental Press J Orthod. 2012;17(2):157-61.

Tepper SA, Zehnder M, Pjarola 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(8): 635-41.

Tufekci E, Dixon JS, Gunsolley JC, Lindauer SJ. Prevalence of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances. *Angle Orthod.* 2011; 81(2): 206-10.

Vorhies AB, Donly KJ, Staley RN, Wefel JS. Enamel demineralization adjacent to orthodontic brackets bonded with hybrid glass ionomer cements: an *in vitro* study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1998; 114(6): 668-74.

Walsh LJ, Abood D, Brockhurst PJ. Bonding of resin composite to carbon dioxide laser-modified human enamel. *Dent Mater.* 1994; 10(3): 162-6.

Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; 20(1): CD007868.

White JM, Goodis HE, Kudler JJ, Tran KT. Thermal laser effects on intraoral soft tissue, teeth and bone *in vitro*. Third International Congress on Lasers in Dentistry. Salt Lake City: University of Utah; 1992.

Whitford GM, Wasdin JL, Schafer TE, Adair SM. Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. *Caries Res.* 2002; 36(4): 256-65.

Whitford GM. 1994. Intake and metabolism of fluoride. *Adv. Dent. Res.* 8: 5–14.

Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. *Br Dent J.* 1972; 132(4): 133-5.

Young DA, Fried D, Featherstone JDB. Treatment occlusal pit and fissure surfaces by laser irradiation. *Laser in dentistry VI. Proceedings of SPIE*, 2000; 3910: 247-53.

Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965; 19: 515-30.

Zachrisson BU, Zachrisson S. Caries incidence and oral hygiene during orthodontic treatment. Scand J Dent Res. 1971; 79(6): 394-401.

Zanarini M, Pazzi E, Bonetti S, Ruggeri O, Alessandri Bonetti G, Prati C. *In vitro* evaluation of the effects of a fluoride-releasing composite on enamel demineralization around brackets. Prog Orthod. 2012; 13(1): 10-6

Zero DT. *In situ* caries models. Adv Dent Res. 1995; 9(3): 214-30.

Zimmer B, Rottwinkel Y. Assessing patient-specific decalcification risk in fixed orthodontic treatment and its impact on prophylactic procedures. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2004; 126: 318-24.

Zuerlein MJ, Fried D, Featherstone JD. Modeling the modification depth of carbon dioxide laser-treated dental enamel. Lasers Surg Med. 1999; 25(4): 335-47.

APÊNDICE 1



Instruções ao voluntário

Orientações gerais

1. Utilize o aparelho intrabucal durante todo o dia e noite, removendo da boca apenas no momento das refeições ou quando for comer ou beber algo.
2. Quando for remover o aparelho da boca, coloque-o no porta-aparelho que lhe foi fornecido, coberto com gaze umedecida em água.
3. Não deixe o aparelho fora da boca por um período prolongado, superior ao tempo necessário para se alimentar ou higienizá-lo.
4. Utilize apenas o dentifrício e a escova fornecidos.
5. Caso o dentifrício acabe, entre em contato com algum dos pesquisadores para a aquisição de nova embalagem.
6. Não utilize fio dental fluoretado ou qualquer tipo de enxaguatórios.
7. Evite ingerir chá verde e chá preto (ambos contêm flúor).
8. Realize a higienização oral de acordo com as indicações da pesquisa*.
9. Durma sempre com o aparelho na boca.

Uso do aparelho intrabucal

1. A sacarose deverá ser gotejada sobre cada bloco dental, 8 vezes ao dia, nos seguintes horários (marcados na tampa do porta-aparelho): 8:00, 9:00, 10:00, 11:00, 14:00, 15:30, 17:00 e 19:00.
2. Para realizar o gotejamento da sacarose, remova o aparelho da boca, seque com gaze a área sobre a tela e dispense uma gota de sacarose sobre cada bloco, sem que a ponta do conta-gotas toque na tela.
3. Após o gotejamento, deixe o aparelho no porta-aparelho por cinco minutos, coberto com a gaze úmida.
4. Caso precise, os horários podem ser alterados. Goteje no horário mais próximo possível do indicado, de maneira que sejam mantidas 8 exposições à sacarose.

* Escovação

1. Realize a escovação 3 vezes ao dia, após as principais refeições do dia (café da manhã, almoço e jantar).
2. Remova o aparelho da boca e realize a escovação de seus dentes, da maneira como faz habitualmente.
3. Realize a escovação do aparelho, fora da boca, de forma a escová-lo por completo, exceto sobre a tela plástica que cobre os blocos de esmalte. Deixe que a espuma do dentifrício passe sobre a tela plástica.
4. Cuidado ao escovar o aparelho. Não deixe que o jato de água da torneira atinja a tela plástica de forma direta, deslocando assim o biofilme.

Observações:

- A solução de sacarose deverá ser trocada às segundas, quartas e sextas-feiras. Por gentileza, retire a nova solução de sacarose e pacotes de gaze no laboratório de Odontopediatria.
- No dia da coleta do aparelho remova-o apenas quando lhe for orientado, no laboratório de Odontopediatria, pela manhã. Não escove os dentes nem ingira qualquer tipo de alimento antes de chegar ao laboratório.
- O café da manhã será servido a partir das 7 horas, ao fim de cada fase de uso do aparelho, na sala ao lado do laboratório de Odontopediatria.

Obrigada por participar!

Qualquer dúvida entre em contato pelos telefones:
(19)8822 5246 (OI) / (17)- 8131 3375(TIM)
(19)2106 5287 – Laboratório de Odontopediatria

APÊNDICE 2

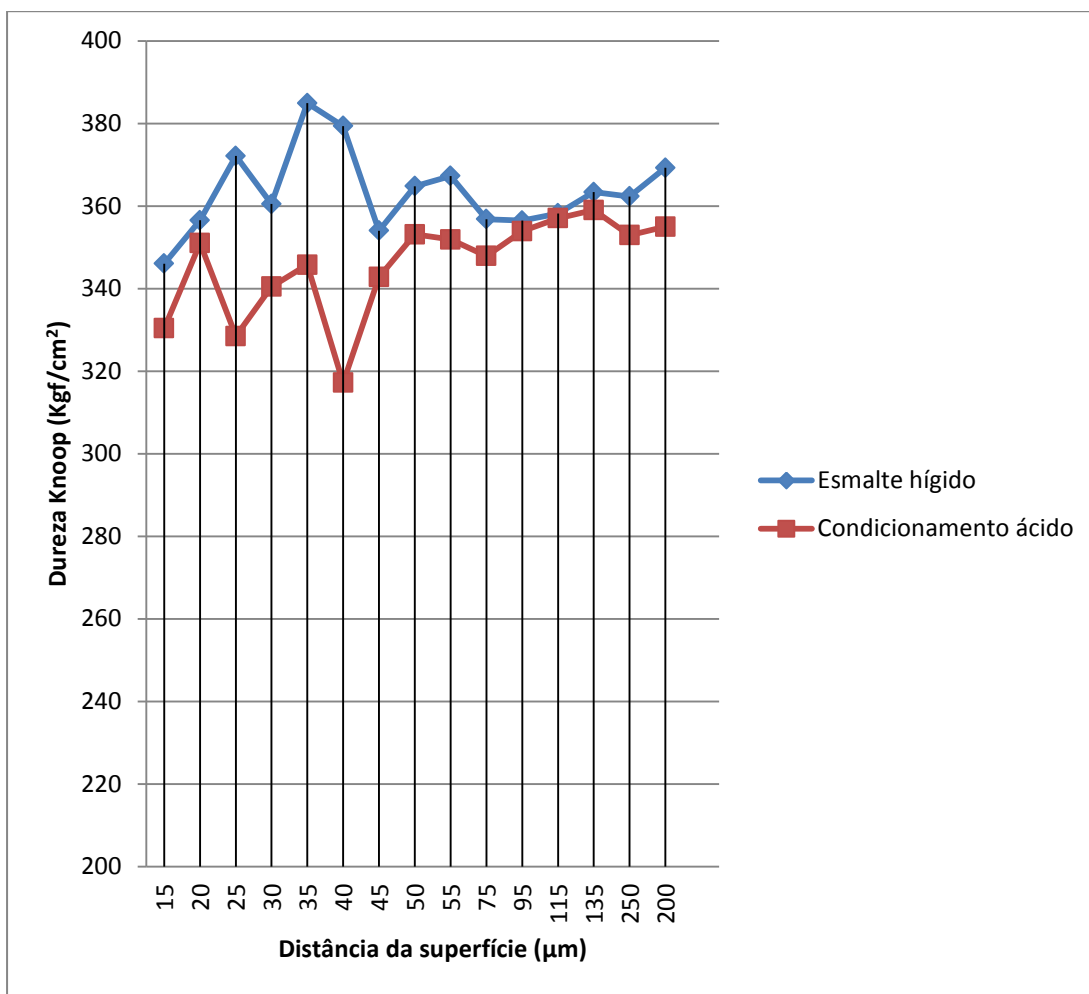


Gráfico 2. Médias do número de Dureza Knoop do esmalte hígido e submetido ao condicionamento ácido, em relação às diferentes profundidades das indentações.



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 **"Avaliação in situ dos efeitos do laser de CO2 e do dentífrico fluoretado na desmineralização do esmalte ao redor de bráquetes ortodônticos"**, protocolo nº 043/2011, dos pesquisadores Lívia Pagotto Rodrigues 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 06/07/2011.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"In situ evaluation of the effects of CO2 laser and fluoridated dentifrice on enamel demineralization around orthodontic brackets"**, register number 043/2011, of Lívia Pagotto Rodrigues 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 07/06/2011.



Prof. Dra. Lívia Maria Andaló Tenuta
Secretária
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 burners, without editing.

ANEXO 2

3M Unitek Transbond XT Light Cure Adhesive		
Ingredient	C.A.S. No.	% by Wt
Silane treated quartz	100402-78-6	70 – 80
Bisphenol a diglycidyl ether dimethacrylate (bisgma)	1565-94-2	10 – 20
Bisphenol a bis(2-hydroxyethyl ether) dimethacrylate	24448-20-2	5 – 10
Silane treated sílica	68611-44-9	< 2
Diphenyliodonium hexafluorophosphate	58109-40-3	< 0.2

3M Unitek Transbond XT Primer		
Ingredient	C.A.S. No.	% by Wt
Bisphenol a diglycidyl ether dimethacrylate	1565-94-2	45 - 55
Triethylene glycol dimethacrylate	109-16-0	45 - 55
4-(dimethylamino)-benzeneethanol	50438-75-0	< 0.5
DI-camphorquinone	10373-78-1	< 0.3
Hydroquinone	123-31-9	< 0.03

Composição do material de colagem extraído do Material Safety Data Sheet 3M Unitek Transbond XT light cure adhesive kit (712-030, 712-035) 12/22/10.

**SISTEMA ADESIVO ORTODÔNTICO
TRANSBOND XT****DESCRIÇÃO**

O Sistema Adesivo Ortodôntico Transbond XT Primer e Adesivo é um sistema indicado para procedimentos em ambiente oral seco.

INDICAÇÃO

O Sistema Adesivo Ortodôntico Transbond XT foi desenvolvido para a união de bráquetes de cerâmica ou metal aos dentes.

Nota: O Adesivo Ortodôntico Transbond XT não é indicado para ser usado com bráquetes de plástico (polycarbonato).

APRESENTAÇÕES**Kit**

- 2 Seringas de Transbond XT (4 g cada)
- 1 cabo de pincel
- 60 pontas de pincel
- 6 ml de Primer Transbond XT

Reposições:

- 4 Seringas de Transbond XT (4 g cada)
- Primer Transbond XT – 6 ml
- Pontas de pincel – 60/pacote
- Cabo de pincel – 4/pacote

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO**Preparação do Dente**

1- Faça um polimento dos dentes com um produto que não contenha flúor, pedra-pomes isenta de óleo ou pasta. Lave com água. Isole os dentes com rolos de algodão.

2- Aplique ar completamente seco usando uma fonte de ar livre de óleo e umidade.

Ataque Ácido:

Aplicar Ácido - Gel Unitek nas superfícies dos dentes seguindo as instruções que acompanham o produto. No caso de utilizar outro ácido-gel, consulte as instruções do fabricante quanto à técnica adequada e o tempo de ataque ácido recomendado.

Obs: Ataque o esmalte por 15 segundos.

- Enxaguar com água e aplicar um jato de ar completamente seco.

APLICAÇÃO DO PRIMER

- Coloque uma pequena quantidade (aproximadamente 3 gotas) de Primer Transbond XT sobre uma ponta de pincel ou chumaço de algodão.

- Aplique uma camada uniforme e fina de primer sobre cada superfície do dente a ser unido ao bráquete usando as pontas de pincel disponíveis.

Obs: Aplique o primer aos dentes e fotopolimerize.

- Seque a fina camada de primer sobre cada dente com um jato de ar isento de umidade e óleo.

ADESIVO DE UNIÃO

- Com a seringa, aplique uma pequena quantidade de Adesivo Transbond XT sobre a base do bráquete. Use economicamente. Quando completada a limpeza da ponta da seringa, substitua a tampa.

COLOCAÇÃO DO BRÁQUETE E POLIMERIZAÇÃO

- Imediatamente após a aplicação do adesivo, posicione levemente o bráquete sobre a superfície do dente.

- Ajuste o bráquete à posição final, pressione firmemente para assentá-lo, remova o excesso de adesivo ao redor da base do bráquete sem deslocá-lo.

- Para unir bráquetes de cerâmica com Sistema Adesivo Ortodôntico Transbond XT, exponha o adesivo fotopolimerizável por 10 segundos pelo posicionamento da ponteira de luz a aproximadamente 2 mm do bráquete e incida a luz através do bráquete de cerâmica. Para unir bráquetes de metal com Sistema Adesivo Ortodôntico Transbond XT, exponha o adesivo fotopolimerizável por 20 segundos pela incidência de luz por 10 segundos em

cada lado, aproximadamente 5 mm acima do contato interproximal. Com o objetivo de alcançar uma polimerização completa do adesivo ao bráquete, os dois lados interproximais do bráquete devem ser polimerizados. Os lados adjacentes dos dois bráquetes podem ser polimerizados ao mesmo tempo.

- Os arcos podem ser colocados imediatamente após a união do último bráquete.

Nota: Os tempos de polimerização anteriormente mencionados se referem ao uso do Aparelho Fotopolimerizador Ortholux ou Ortholux XT. Outros fotopolimerizadores, dependendo dos seus rendimentos, podem requerer tempos maiores para polimerização.

UNIÃO DE COROAS DE PORCELANA

Precaução: Deve-se tomar cuidado quando unir coroas de porcelana ou adornos pois a desunião pode causar fragmentação, delaminação ou quebra da coroa. Não una coroas de porcelana que tenham faces finas ou que aparentemente estejam comprometidas. Prepare a coroa de porcelana para ser unida pelo uso de um primer para porcelana como o 3M RelyX Agente Silano Scotchprimer. Siga as instruções de uso incluídas no produto.

REMOÇÃO DOS BRÁQUETES

a) Transcend Bráquetes de Cerâmica Série 60000 devem ser removidos com um instrumento próprio para este fim cuja referência é 444-770 usando a técnica recomendada. Maiores informações podem ser obtidas nas instruções de uso do Transcend.

b) Bráquetes de metal podem ser removidos com o instrumento para retirada de bráquetes 3M Unitek referência 444-761. Uma alternativa para bráquetes duplos é o uso de alicates para pressionar mesial e distalmente e retirar o bráquete do dente.

c) O adesivo remanescente nos dentes pode ser removido através de um motor de baixa rotação e uma broca com ponta de tungstênio.

d) Polir os dentes com pedra-pomes grão médio.

Siga as instruções do fabricante sobre o manuseio, formas de uso e recomendações para proteção dos olhos quando utilizar um aparelho fotopolimerizador.

ADVERTÊNCIA:

O Sistema Adesivo Ortodôntico Transbond XT Primer e Adesivo contém monômeros de acrílicos. Os monômeros acrílicos são conhecidos por produzir reações alérgicas na pele de pessoas sensíveis.

PRECAUÇÕES:

Evite contato com os olhos e pele. Use luvas quando for manusear este material.

Em caso de contato com os olhos, lave-os imediatamente com água em abundância. Procure um médico se a irritação persistir.

Em caso de contato com a pele, lave a área afetada com água e sabão. Procure um médico se a irritação persistir.

ESTOCAGEM E USO:

1- Não exponha os materiais a temperaturas elevadas ou luz intensa.

2- Kits fechados devem ser refrigerados (2°C) para prorrogar a validade. Se estocado em geladeira, traga-o à temperatura ambiente antes do uso.

3- Não estoque o material próximo a produtos contendo eugenol o que pode inibir a polimerização do adesivo.

4- Este sistema foi desenvolvido para ser usado à temperatura ambiente de aproximadamente 24°C. A validade à temperatura ambiente é de três anos. A seringa e a tampa do frasco são repostas imediatamente após a dispensação.

5- Recomendamos uso de luvas e óculos de segurança ao manusear o produto.