

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA INTEGRADA

MARÍA LUJÁN MÉNDEZ BAUER

**ESTUDO *IN VITRO* DO EFEITO DE TRATAMENTO DE DESMINERALIZAÇÃO-
REMINERALIZAÇÃO VS. TRATAMENTO DE MICROABRASÃO NO ESMALTE
COM FLUOROSE DENTÁRIA.**

PONTA GROSSA

2022

MARÍA LUJÁN MÉNDEZ BAUER

**ESTUDO *IN VITRO* DO EFEITO DE TRATAMENTO DE DESMINERALIZAÇÃO-
REMINERALIZAÇÃO VS. TRATAMENTO DE MICROABRASÃO NO ESMALTE COM
FLUOROSE DENTÁRIA.**

Tese apresentada como requisito para a obtenção do título de Doutor na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Curso de Doutorado em Odontologia – Área de concentração em Clínica Integrada.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Stadler Wambier

Co-orientador: Prof. Dr. Alessandro Dourado Loguercio

PONTA GROSSA

2022

B344 Bauer, María Luján Méndez
Estudo *in vitro* do efeito de tratamento de desmineralização-remineralização vs. tratamento de microabrasão no esmalte com fluorose dentária. / María Luján Méndez Bauer. Ponta Grossa, 2022.
65 f.

Tese (Doutorado em Odontologia - Área de Concentração: Clínica Integrada), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Stadler Wambier.
Coorientador: Prof. Dr. Alessandro Dourado Loguercio.

1. Esmalte. 2. Fluorose dentária. 3. Microabrasão do esmalte. I. Wambier, Denise Stadler. II. Loguercio, Alessandro Dourado. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Clínica Integrada. IV.T.

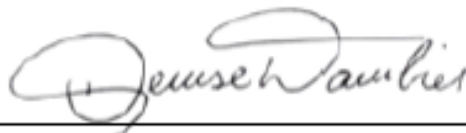
CDD: 617.6

MARÍA LUJÁN MÉNDEZ BAUER

**ESTUDO *IN VITRO* DO EFEITO DE TRATAMENTO DE DESMINERALIZAÇÃO-
REMINERALIZAÇÃO VS. TRATAMENTO DE MICROABRASÃO NO ESMALTE COM
FLUOROSE DENTÁRIA.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto sensu em Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia – Área de concentração em Clínica Integrada, linha de pesquisa de Propriedades físico-químicas e biológicas dos materiais.

Ponta Grossa, 9 de março de 2022.



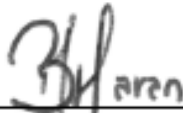
Profa. Dra. Denise Stadler Wambier
Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG



Profa. Dra. Ana Cláudia Rodrigues Chibinski
Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG



Fabiana Fernandes Madalozzo Coppla
Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG



Bianca Medeiros Maran
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)



Edward Werner Schubert
Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE)

Dedico este trabalho:

A Deus e minha família. Sem eles eu não teria chegado até aqui.

A todas as mulheres da Guatemala, para que não desistam dos seus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Stella** e **Juan**, por me apoiarem em cada passo, o doutorado é um presente para vocês, reflexo de tudo o aprendido com vocês. Ao meu avô, **Erih**, por seu apoio e amor. Aos meus irmãos, **Mabi** e **Pucho**, pelo apoio e conselhos. Querida família de Guatemala, a distância foi difícil, mas fiz valer a pena.

Ao Programa de Alianças para Educação e Capacitação (**PAEC**), Organização dos Estados Americanos (**OEA**), Grupo Coimbra de Universidades Brasileiras (**GCUB**) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) agradeço pela ajuda aos latino-americanos na educação.

Aos meus orientadores, **Profa. Dra. Denise Stadler Wambier** e **Prof. Dr. Alessandro Dourado Loguercio**, agradeço por me abrirem as portas da UEPG. Sou grata por tudo e espero representar a pós-graduação no meu país.

A minha família de estrangeiros em Ponta Grossa, que tornaram a minha experiência fora do meu país mais enriquecedora, pois aprendi de tradições, gastronomia, sotaques e sobretudo amizade sincera. A minha estância no Brasil será inesquecível depois destes 6 anos compartilhados junto a vocês.

A turma do doutorado que compartilhou comigo, obrigada queridas e queridos pelo tempo no laboratório, nas aulas e pela troca de conhecimentos. Aos professores pelo ensino e tempo dedicado para que o meu doutorado chegasse até aqui. Aos técnicos e funcionários da UEPG, pelo tempo e dicas compartilhadas.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta participaram desta etapa em minha vida acadêmica, agradeço a cada um de vocês por fazer com que o mestrado fosse um ensino acadêmico e pessoal.

DADOS CURRICULARES

María Luján Méndez Bauer

NASCIMENTO

24.03.1989

Quetzaltenango – Guatemala

FILIAÇÃO

Stella de los Angeles Bauer Walter

Juan José Méndez Barrios

2007 – 2014

Curso de Graduação em Odontologia, Universidad Mesoamericana (UMES), nível licenciatura.

Quetzaltenango – Guatemala

2016 – 2018

Curso de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), nível de Mestrado em Odontologia - Área de Concentração em Clínica Integrada

2018 – 2020

Curso de Especialização em Dentística Restauradora. Associação Brasileira de Odontologia. Ponta Grossa – PR. Brasil.

2018 – 2022

Curso de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), nível de Doutorado em Odontologia – Área de Concentração em Clínica Integrada

RESUMO

O uso de fluoretos contribuiu para uma melhora significativa da saúde bucal, entretanto, estudos identificaram a fluorose dentária como um sinal do efeito tóxico desse agente químico, que pode ser identificada como manchas opacas, variando de brancas à marrom, podendo apresentar comprometimento estético. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar o efeito do tratamento de desmineralização-remineralização (DES-RE) com o tratamento de microabrasão (MA) na superfície do esmalte afetado por fluorose. Foram realizadas análises qualitativas e quantitativas antes e após tratamentos com ANTIVET® (DES-RE; MDC dental) e WHITENESS RM® (MA; FGM), em corpos de prova obtidos de 24 pré-molares com grau 3 de fluorose segundo o índice de Dean. Foram realizados os testes de aderência bacteriana (AB), Perfilometria ótica e rugosidade linear (PO), análise qualitativa em Microscópio eletrônico de Varredura por efeito de campo (FEG), espectrometria de energia dispersa de raios X (EDS) e espectrofotômetro Raman (RAMAN). De acordo com os resultados obtidos, para o teste de AB, não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos. Na análise de PO, os dois grupos mostraram perda de superfície do esmalte e na rugosidade linear o grupo DES-RE foi estatisticamente mais liso após o tratamento. Nos testes de FEG, o DES-RE mostrou uma superfície mais lisa após finalizado o tratamento e o MA apresentou uma superfície mais rugosa. No teste EDS, o flúor diminuiu no grupo DES-RE; as porcentagens de fósforo e cálcio aumentaram no grupo DES-RE e diminuíram no grupo MA. No teste RAMAN, houve uma tendência que os picos aumentaram após aplicação dos dois tratamentos. Baseado nesses resultados pode-se concluir que os dois tratamentos eliminaram estrutura do esmalte e não interferiram com a colonização bacteriana. Após tratamento DES-RE o esmalte apresenta um aspecto mais liso e sem perda percentual de minerais quando comparado com o tratamento MA.

Palavras-chave: esmalte, fluorose dentária, microabrasão do esmalte.

ABSTRACT

The use of fluorides has contributed to a significant improvement in oral health, however, studies have identified dental fluorosis as a sign of the toxic effect of this chemical agent, which can be identified as opaque spots, ranging from white to brown, and may present esthetic impairment. Thus, the aim of this study was to compare the effect of demineralization-remineralization (DES-RE) treatment with microabrasion (MA) treatment on the enamel surface affected by fluorosis. Qualitative and quantitative analyzes were performed before and after treatments with ANTIVET® (DES-RE; dental MDC) and WHITENESS RM® (MA; FGM) in specimens obtained from 24 premolars with degree 3 of fluorosis according to the Dean index. Bacterial adhesion (AB), optical profilometry and linear roughness (PO) tests, qualitative analysis in a field effect scanning electron microscope (FEG), x-ray energy expended spectrometry (EDS) and Raman spectrophotometer (RAMAN) were performed. According to the results obtained, for the AB test, no significant differences were detected between the groups. In the PO analysis, both groups showed loss of enamel surface and in linear roughness the DES-RE group was statistically smoother after treatment. In the FEG tests, the DES-RE showed a smoother surface after finishing the treatment and the MA showed a rougher surface. In the EDS test, fluoride decreased in the DES-RE group; the percentages of phosphorus and calcium increased in the DES-RE group and decreased in the MA group. In the RAMAN test, there was a trend that the peaks increased after application of the two treatments. Based on these results, it can be concluded that both treatments eliminated enamel structure and did not interfere with bacterial colonization. After DES-RE treatment, the enamel has a smoother appearance and no percentage loss of minerals when compared to the MA treatment.

Keywords: enamel, dental fluorosis, enamel microabrasion

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Distribuição dos grupos experimentais do estudo.	32
FIGURA 2. Fotografia do material Antivet®.	34
FIGURA 3. Fotografia do material Whiteness RM®.....	34
FIGURA 4. Confecção dos corpos de prova.	35
FIGURA 5. Preparo de microrganismos.	36
FIGURA 6. <i>Streptococcus mutans</i> observados com coloração de Gram.	36
FIGURA 7. Inoculação dos microrganismos.	37
FIGURA 8. Remoção dos microrganismos aderidos e não aderidos.....	38
FIGURA 9. Contagem dos microrganismos aderidos.	39
FIGURA 10. Preparo para avaliação dos microrganismos no Microscópio.	40
FIGURA 11. Preparo para avaliação da superfície no Perfilômetro ótico.	41
FIGURA 12. Preparo para Avaliação no FEG.	42
FIGURA 13. Preparo para Avaliação no Espectrómetro RAMAN.	44
FIGURA 14. Microfotografia da distribuição dos <i>S. mutans</i> no esmalte.	45
FIGURA 15. Imagens mostrando a topografia do esmalte no grupo Antivet.	46
FIGURA 16. Imagens mostrando a topografia do esmalte no grupo Whiteness.	46
FIGURA 17. Microfotografias da superfície do esmalte no grupo Antivet.....	47
FIGURA 18. Microfotografias da superfície do esmalte no grupo Whiteness.....	48
FIGURA 19. Espectro no grupo Antivet, antes (ANT) e após (AT) da aplicação do material.....	49
FIGURA 20. Espectro no grupo Whiteness, antes (WNT) e após (WT) da aplicação do material.....	49

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. Índice de Dean.	22
QUADRO 2. Composição e modo de uso dos materiais experimentais	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Média e desvio padrão das unidades formadoras de colônia (UFC/ml) .	45
TABELA 2. Média e desvio padrão da rugosidade linear (Ra) (μm) antes e após os tratamentos.....	47
TABELA 3. Média e desvio padrão das porcentagens dos elementos antes e após os tratamentos avaliados.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	Três dimensões
BHI	Infusão cérebro coração, do inglês <i>Brain Heart Infusion</i>
CO ₂	Dióxido de carbono
CP	Corpos de prova
DDE	Defeitos do desenvolvimento do esmalte
FDI	Federação Internacional Dentária, do francês <i>Fédération Dentaire Internationale</i>
FEG	Microscópio Eletrônico de Varredura por Efeito de Campo
H ⁺	Hidrogênio
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
PBS	Tampão fosfatado, do inglês <i>Phosphate Buffer Solution</i>

LISTA DE SIMBOLOS E UNIDADES

%	Porcentagem
mm	Milímetros
min	Minutos
°C	Graus Célsius
h	Horas
x	Vezez
s	Segundo
ml	Mililitro
μl	Microlitro
μm	Micrometro
>	Maior do que

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	ESMALTE	18
2.2	DEFEITOS DE DESENVOLVIMENTO DO ESMALTE	19
2.3	FLUOROSE	20
2.3.1	Índices de classificação da fluorose	21
2.3.2	Diagnóstico	22
2.3.3	Tratamento	23
2.3.3.1	Microabrasão	24
2.3.3.2	Macroabrasão.....	25
2.3.3.3	Clareamento externo.....	26
2.3.3.4	Resina Infiltrativa.....	26
2.3.3.5	Desmineralização-remineralização.....	27
2.3.3.6	Restaurações diretas	28
2.3.3.7	Restaurações indiretas.....	28
3	PROPOSIÇÃO	30
3.1	PROPOSIÇÃO GERAL.....	30
3.2	PROPOSIÇÕES ESPECÍFICAS	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
4.1	DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO	31
4.2	CONFECÇÃO DOS CORPOS DE PROVA	34
4.3	TESTE DE ADERÊNCIA BACTERIANA.....	35
4.3.1	Preparo de microrganismo.....	35
4.3.2	Inoculação de microrganismos	37
4.3.3	Remoção de microrganismos aderidos e não aderidos.....	38
4.3.4	Contagem de microrganismos aderidos.....	38
4.3.5	Avaliação dos microrganismos no Microscópio	39
4.4	PERFILOMETRIA ÓTICA.....	40
4.5	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA POR EFEITO DE CAMPO.....	41

4.6	ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (EDS).....	42
4.7	ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	43
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5	RESULTADOS	45
5.1	ADERÊNCIA BACTERIANA	45
5.1.1	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	45
5.2	PERFILOMETRIA ÓTICA.....	46
5.3	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA POR EFEITO DE CAMPO	47
5.4	ESPECTOMETRIA DE ENERGIA DISPERSA DE RAIOS X.....	48
5.5	ESPECTROMETRIA RAMAN.....	48
6	DISCUSSÃO	50
7	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

O uso de fluoretos contribuiu para uma melhora significativa na saúde bucal e a qualidade de vida da população diminuindo o índice de cárie dentária; entretanto, a fluorose dentária é identificada como a primeira sinal clínica do efeito tóxico desse elemento químico (Burt ¹ 1995). A fluorose dentária é caracterizada por um defeito de desenvolvimento do esmalte causado pela ingestão excessiva de flúor, resultando em esmalte hipomineralizado com maior porosidade (Bronckers et al. ² 2009). Fontes potenciais de flúor incluem água para beber e cozinhar, leite e sal fluoretados, ingestão de dentifrícios, poluição ambiental, pesticidas e produtos de flúor aplicados profissionalmente (Martignon et al. ³ 2021). Clinicamente, a fluorose é identificada como manchas que variam de leves linhas brancas a manchas opacas, cobrindo uma parte ou toda a superfície do esmalte, podendo adquirir de uma pigmentação ou fraturas do esmalte após a erupção (Carvalho et al. ⁴ 2010). Para diagnosticar a fluorose dentária, são comumente utilizados os índices de “Dean” e “Thylstrup/Fejerskov”, que classificam com diferentes escores o grau de dano à estrutura dentária (Thylstrup e Fejerskov ⁵ 1978; Dean ⁶ 1956).

Os estudos epidemiológicos mostram que a fluorose dentária afeta populações de várias regiões (Martignon et al. ³ 2021; Mutis et al. ⁷ 2019), sendo endêmica em pelo menos 25 países em todos os continentes (Fawell et al. ⁸ 2006). Nos Estados Unidos a prevalência de fluorose aumentou de 22% para 65% conforme dados de Pesquisas Nacionais de Saúde de Nutrição (NHANES) (Neurath et al. ⁹ 2019).

No Brasil, os estudos epidemiológicos, mostram uma prevalência de fluorose baixa e muito baixa na população sem água fluoretada. Por outro lado, os casos moderados e graves de fluorose foram relatados em cidades ou distritos rurais onde a água é fornecida por poços artesianos. (Lima et al. ¹⁰ 2019) Na Guatemala, foi relatado 15,09% de fluorose dentária, sendo a fluorose muito leve a que apresentou o maior porcentagem (5,51%) no estudo epidemiológico de 1999-2002. (Sánchez Rodas et al. ¹¹ 2002) Além disso, a fluorose dentária foi reportada como um problema de saúde pública em Colonia Villa Hermosa, Jutiapa (Del Busto De León ¹² 2004) e em Los Amates, Izabal, (García Salas Girón ¹³ 2015) regiões categorizadas como endêmicas.

A fluorose dentária não causa dor ou sintomas (Chankanka et al. ¹⁴ 2010; Wei et al. ¹⁵ 2019) e os seus efeitos estão relacionados principalmente à aparência estética. Atualmente, os pacientes tendem a buscar dentes mais brancos e brilhantes (Khalid e Quiñonez ¹⁶ 2015; Carey ¹⁷ 2014), assim os indivíduos portadores de fluorose dentária passaram a perceber e a se preocupar com a aparência dos seus dentes, fato que pode afetar a qualidade de vida relacionada à saúde bucal (Chankanka et al. ¹⁴ 2010) do portador, gerando também alerta ou incômodo aos responsáveis. (Diaz et al. ¹⁸ 2018) Pacientes com fluorose dentária relataram que se sentiram melhor após de tratamentos para a fluorose dentária. (Meireles et al. ¹⁹ 2018)

Para tratar a fluorose dentária, foram descritos procedimentos estéticos para reduzir ou eliminar as manchas fluoróticas da superfície do esmalte. Cada abordagem terapêutica tem sua indicação, correlacionada à gravidade da fluorose (Akpata ²⁰ 2001). Para fluorose leve e moderada é descrito na literatura o uso de clareamento, microabrasão ou infiltração de resina. Para fluorose grave, o tratamento pode incluir facetas dentárias ou coroas (Akpata ²⁰ 2001; Di Giovanni et al. ²¹ 2018). Os tratamentos são geralmente realizados em combinação para obter melhores resultados. (Meireles et al. ¹⁹ 2018; Di Giovanni et al. ²¹ 2018) Uma revisão sistemática comparou a eficácia dos tratamentos para esmalte com fluorose dentária (Di Giovanni et al. ²¹ 2018), concluindo que a infiltração de resina foi o tratamento mais eficaz para lesões de gravidade leve a moderada, seguido por clareamento e microabrasão. Em contraste, a infiltração de resina e o clareamento são considerados tratamentos caros. A microabrasão do esmalte é uma técnica conservadora, de fácil aplicação clínica (Sundfeld et al. ²² 2007; Cordeiro e Torno ²³ 2012), e pode ser considerada um tratamento de baixo custo dependendo do material escolhido para o procedimento.

Nos tratamentos de microabrasão e infiltração de resina, utiliza-se o ácido clorídrico. O uso do ácido clorídrico surgiu entre 1960-1970, quando foi incluído em uma solução clareadora com resultados satisfatórios na remoção do esmalte manchado com fluorose (McInnes ²⁴ 1966; Bailey e Christen ²⁵ 1970). Anos depois, essa solução clareadora foi combinada com a técnica de polimento de disco de lixa (Chandra e Chawla ²⁶ 1975), sendo posteriormente o ácido clorídrico a 18% combinado com pedra-pomes (Croll e Cavanaugh ²⁷ 1986). Devido à alta concentração de ácido clorídrico e tempo utilizado nessas técnicas, outros métodos foram propostos (Loguercio et al. ²⁸ 2007; Castro et al. ²⁹ 2014; Pini et al. ³⁰ 2015). Estudos recentes têm sido desenvolvidos mantendo ainda o uso do ácido clorídrico

com percentuais entre 16-18% com bons resultados e sem complicações (Nevárez-Rascón et al. ³¹ 2020; Balan et al. ³² 2013).

Outra alternativa de tratamento propõem o emprego do ácido clorídrico à 21%, incluindo a técnica de DES-RE do esmalte. O material apresenta um frasco de solução ácida e uma de solução alcalina. A solução ácida deve ser friccionada suavemente sobre o esmalte para em seguida aplicar a solução alcalina que objetiva neutralizar o ácido. Alguns casos clínicos têm sido reportados na literatura (Karakowsky Kleiman e Fierro Velázquez ³³ 2019; Panday ³⁴ 2021; Bauer et al. ³⁵ 2021), mostrando resultados satisfatórios com melhora na estética. No entanto, na busca de textos sobre o tema não foram localizados estudos *in vitro* que mostrem os efeitos desta técnica na superfície do esmalte de dentes afetados por fluorose dentária.

Tendo em vista a maior valorização da estética dos dentes, como fator importante na qualidade de vida dos indivíduos, bem como a necessidade de tratamentos minimamente invasivos, técnicas que produzam menor desgaste na estrutura dentária devem ser investigadas. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar o tratamento de desmineralização-remineralização com o tratamento de microabrasão, analisando *in vitro* os possíveis efeitos dessas técnicas na superfície do esmalte com fluorose dentária.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ESMALTE

O esmalte está constituído por cristais de hidroxiapatita, contém fosfato de cálcio, e devido ao alto percentual de matriz inorgânica é a estrutura mais dura do corpo humano. Possui características únicas, que merecem destaque, entre elas (Lacruz et al. ³⁶ 2017; Pandya e Diekwisch ³⁷ 2019):

- Embriologicamente deriva do ectoderma
- Não possui colágeno, pois a matriz orgânica do esmalte é de natureza proteica
- Os cristais de hidroxiapatita estão densamente unidos e são maiores do que outros tecidos e são solúveis aos ácidos.
- Os ameloblastos após formarem o esmalte, sofrem o mecanismo de apoptose, fazendo que o esmalte não possa ter crescimento nem aposição após a erupção dental.
- Por serem uma estrutura acelular, avascular e sem inervação, o esmalte não é considerada um tecido, mas sim uma substância extracelular altamente mineralizada
- Não possui um mecanismo de regeneração, mas pode sofrer do efeito de desmineralização e remineralização.

A superfície externa do esmalte tem relação direta com o meio bucal. O esmalte tem uma película primária que é composta do último produto de secreção ameloblástica, protegendo o dente temporariamente pois no momento que o dente entra na função mastigatória, essa película desaparece, persistindo somente ao nível cervical (Lacruz et al. ³⁶ 2017). Posteriormente o dente é coberto por uma película adquirida exógena de origem salival e por biofilme dental colonizado por microrganismos, criando a película secundária (Van Nieuw Amerongen et al. ³⁸ 2004).

Histologicamente, o esmalte está constituído por uma unidade estrutural básica (prismas do esmalte) e por unidades estruturais secundárias, que são originadas da unidade básica. A unidade estrutural básica do esmalte são os prismas do esmalte, que são compostos por cristais de hidroxiapatita (Arola et al. ³⁹ 2017). O conjunto dos

prismas forma um esmalte prismático que constitui a maior parte da matriz extracelular mineralizada. Na periferia da coroa e na união amelodentinária existe o denominado esmalte aprismático (Lacruz et al. ³⁶ 2017).

A amelogênese é o mecanismo de formação do esmalte e é dividido em três fases. Na primeira fase, chamada “fase de secreção” ou formativa, ocorre a diferenciação celular do epitélio interno em ameloblastos, logo após da deposição da dentina pelos odontoblastos, sendo assim que a formação do esmalte começa desde o extremo cuspídeo, seguindo a formação da dentina. Um defeito nesta fase poderá resultar numa hipoplasia do esmalte, que é uma falha estrutural do esmalte. Na segunda fase, chamada de “fase de formação e maturação da matriz”, ocorre o crescimento dos cristais, perda de água e uma redução de proteínas. Uma variação na segunda fase pode resultar numa hipomaturação do esmalte. Na terceira fase, chamada de “fase de mineralização”, nesta fase ocorre a mineralização quase imediata da matriz, formação, nucleação e alongação dos cristais, assim como a remoção da matriz orgânica e maturação do cristal (Lacruz et al. ³⁶ 2017; Arola et al. ³⁹ 2017).

O ameloblasto é uma célula muito sensível as mudanças no seu entorno, alterações de origem genético ou medioambiental podem provocar cicatrizes permanentes no esmalte. Os defeitos podem afetar uma pequena parte da superfície do esmalte ou afetar toda sua espessura, e além disso podem ser localizados em um único dente ou afetar vários, apresentando-se de forma simétrica ou assimétrica. (Moran et al. ⁴⁰ 2000)

2.2 DEFEITOS DE DESENVOLVIMENTO DO ESMALTE

Segundo a FDI,1992, os defeitos de desenvolvimento do esmalte são alterações na aparência e espessura dessa estrutura, como resultado de uma disfunção no órgão de esmalte (Federation ⁴¹ 1992). Os defeitos são classificados em opacidade difusa, opacidade demarcada e hipoplasia. Como foi descrito anteriormente, alterações na primeira fase de formação do esmalte, podem provocar hipoplasia que pode ser detectada por fissuras ou por perda de esmalte. Alterações na fase de calcificação ou maturação podem causar hipomineralização do esmalte (opacidade) (Frazão et al. ⁴² 2004; Hoffmann et al. ⁴³ 2007).

A hipoplasia do esmalte é um defeito quantitativo, pois a espessura do esmalte toma-se diminuída. A hipomineralização é um defeito qualitativo pois a aparência do

esmalte é afetada, pela presença de uma translucidez anormal (Jälevik e Norén ⁴⁴ 2000). Estes defeitos não podem ser revertidos, pois o esmalte não sofre de remodelação depois de formado.

A Organização Mundial da Saúde (OMS), utiliza o índice DDE (índice modificado de defeitos de desenvolvimento no esmalte) para registro clínico e epidemiológico (Federation ⁴¹ 1992). Neste índice, os defeitos são observados a partir do aspecto clínico, propondo-se uma classificação que identifique tipo, número e localização dos defeitos. Assim, de acordo com o índice DDE são considerados nove critérios: normal, opacidade definida, opacidade difusa, hipoplasia, outros defeitos, opacidade definidas e difusas, opacidade definidas e hipoplasia, opacidade difusa e hipoplasia, não informado.

2.3 FLUOROSE

A fluorose dentária é um defeito do esmalte, que se origina à partir da exposição do gérmen dentário durante sua formação, a altas concentrações do íon flúor. Clinicamente a fluorose aparece como manchas opacas no esmalte, em dentes homólogos, até regiões amareladas ou marrom em casos de alterações mais graves (DenBesten ⁴⁵ 1999; Fejerskov et al. ⁴⁶ 1994).

A severidade da fluorose está diretamente associada à quantidade ingerida de flúor durante o período de formação dos dentes, no entanto, outros fatores interferem na severidade da doença: baixo peso corporal, taxa de crescimento esquelético e períodos de remodelamento ósseo, estado nutricional, alterações da atividade renal e da homeostase do cálcio também são fatores relevantes (DenBesten ⁴⁵ 1999). Esse fato explica por que a doença aparece mais frequentemente na dentição permanente de crianças de baixo peso ou estado nutricional precário, portadores de insuficiência renal crônica, agravos que ocorrem durante a primeira e segunda infância (Fejerskov et al. ⁴⁶ 1994).

Em geral, as altas prevalências de fluorose ocorrem nos locais onde existem fontes naturais com alto teor de flúor ou quando os indivíduos ingerem flúor de múltiplas fontes. Historicamente, a fluorose se apresenta de forma endêmica em todas as faixas etárias (Saúde ⁴⁷ 2012). Nos Brasil, os trabalhos publicados sobre esse tema, apresentaram prevalências que variam de zero até 97,6% (Mutis et al. ⁷ 2019; Neurath et al. ⁹ 2019; Saúde ⁴⁷ 2012; Capella et al. ⁴⁸ 1989), com grande variabilidade de

acordo com as diferentes regiões, entretanto, a proporção de indivíduos que apresentam as formas moderada e severa é pequena, só aumentando significativamente nos locais onde a fluorose é endêmica e deve-se à alta concentração do fluoreto nas fontes naturais de água.

2.3.1 Índices de classificação da fluorose

Os índices mais utilizados para classificar a fluorose dentária são o Thylstrup - Fejerskov, Dean e o TSIF. A diversidade dos índices utilizados para a mensuração dessa alteração dentária, dificulta a comparação entre os estudos, mesmo assim é de fundamental importância que esses descrevam os casos de moderados a severos da doença. A severidade de uma doença é considerada de importância para a saúde pública, pois provocam alterações estéticas e funcionais significativas, e percebidas como de relevância social para a comunidade (Clark e Berkowitz ⁴⁹ 1997; Viegas et al. ⁵⁰ 2011).

O Índice de Thylstrup-Fejerskov classifica a fluorose dentária em nove graus de severidade, apresentando diferentes categorias de comprometimento do esmalte dentário até as formas mais graves. Para fazer o exame clínico, é recomendado realizar uma profilaxia prévia e secagem para a observação dos dentes. O uso desse índice é indicado para populações com altas exposições a fluoretos ou alta prevalência da doença (Thylstrup e Fejerskov ⁵ 1978; Fejerskov et al. ⁴⁶ 1994).

O índice de Dean é baseado nas variações do aspecto estético do esmalte, que é classificado em seis categorias, desde normal/ questionável até a forma grave. É um índice bastante utilizado, embora seja incapaz de descrever com clareza graus diferentes das formas mais severas da doença, já que estas estão agrupadas em uma única categoria (Dean ⁶ 1956). O QUADRO 1 descreve as características deste índice em cada categoria.

QUADRO 1. Índice de Dean.

ESCORE		DESCRIÇÃO
0	Normal	Esmalte superficial liso, brilhante e geralmente de cor branca bege pálida.
1	Questionável	Esmalte apresenta leves aberrações na translucidez de esmalte normal, que podem variar desde pequenos traços esbranquiçados até manchas ocasionais.
2	Muito leve	Áreas pequenas e opacas de cor branca, porosas, dispersas irregularmente sobre o dente, mas envolvendo menos de 25% da superfície dentária vestibular.
3	Leve	Opacidade branca do esmalte mais extensa do que para o código 2, recobrimdo menos de 50% da superfície dentária.
4	Moderado	Superfície de esmalte apresentando desgaste acentuado e manchas marrons, frequentemente alterando a anatomia do dente.
5	Severo	Superfície do esmalte muito afetada e hipoplasia tão acentuada que o formato geral do dente pode ser afetado. Existem áreas com fossas ou degastes e manchas marrons espalhadas por toda parte; os dentes frequentemente apresentam aparência de corrosão.

Fonte: (Dean ⁶ 1956)

O Índice TSIF utiliza a superfície oclusal, vestibular e lingual do dente como unidade de análise, classificando-as em 8 categorias, sendo do 0 a 2 as variações nos graus de opacidade, enquanto de 3 a 7 são classificados os graus de manchamento ou cavitação da estrutura (Horowitz et al. ⁵¹ 1984).

2.3.2 Diagnóstico

Conforme descrito anteriormente, o diagnóstico preciso da fluorose requer a inspeção das superfícies dentais secas e limpas, assim recomenda-se a profilaxia previa ao diagnóstico (Fejerskov et al. ⁴⁶ 1994). As alterações de fluorose podem ser facilmente observadas sob uma boa fonte de luz, que seja direcionada de maneira tangencial. A codificação é feita com base nos dois dentes mais afetados, caso esses dois dentes não estejam igualmente afetados, o escore é baseado na aparência do dente menos afetado. Quando um dente é classificado, deve se categorizar por um nível mais alto do índice e se elimina cada escore até chegar a condição presente. Na dúvida da categoria, sempre se atribui o menor escore (Organization ⁵² 2013).

A aparência clínica da fluorose dentária leve é caracterizada por estrias bilaterais, difusas, opacas e brancas que correm horizontalmente ao longo do esmalte. Os pré-molares e os segundos molares são os mais frequentemente afetados, seguidos dos incisivos superiores. As opacidades podem se unir e formar manchas brancas. Já nas

formas graves, o esmalte fica descolorido e pode até ser perdido. Após a erupção, o esmalte fluorótico se mancha com o tempo devido à difusão de íons exógenos que interagem no esmalte poroso (Organization ⁵² 2013; Abanto Alvarez et al. ⁵³ 2009). O diagnóstico diferencial entre fluorose e opacidades não induzidas por flúor é baseado nas diferenças entre padrões simétricos e assimétricos. Contudo, afirma-se que todas as condições opacas do esmalte simetricamente distribuídas e não discretas são fluorose (Abanto Alvarez et al. ⁵³ 2009).

As dificuldades de diagnóstico ocorrem nas formas leves da fluorose e quando aparecem condições não fluoróticas, mesmo porque as opacidades no esmalte sem flúor incluem todas as categorias de opacidades não definidas como fluorose (Federation ⁴¹ 1992; Abanto Alvarez et al. ⁵³ 2009), assim é necessário um exame clínico completo. Por isso, é importante ressaltar que as lesões de fluorose geralmente aparecem próximas das pontas de cúspides e dependendo da severidade, se evidenciam em outras áreas do dente. As opacidades ocasionadas por outras razões, e não pela ingestão de flúor se localizam no centro da superfície com formato regular. Outra característica seria que as lesões de fluorose aparecem geralmente como linhas finas, com aparência fosca e as opacidades não fluoróticas possuem aparência arredondada ou oval em seu formato (Organization ⁵² 2013).

2.3.3 Tratamento

Sabe-se que a prevenção é a melhor medida para evitar doenças, sendo o controle da ingestão de flúor, sem dúvida, a melhor forma de prevenir a fluorose dentária. Uma vez instalada, problemas estéticos se constituem na principal queixa dos pacientes.

Algumas técnicas de tratamento têm sido descritas na literatura, o uso de cada uma dependerá da severidade das lesões. Entre os tratamentos pode-se mencionar clareamento externo, microabrasão, facetas dentais, ou coroas (Carvalho et al. ⁴ 2010; Akpata ²⁰ 2001) e ainda uma combinação de métodos (Di Giovanni et al. ²¹ 2018; Saúde ⁴⁷ 2012). Como os pacientes com manchas de esmalte são bastante jovens, com uma expectativa de vida de muitas décadas, abordagens restaurativas minimamente invasivas e que poupam tecidos duros, como microabrasão, clareamento externo, ou a infiltração de resina ganharam destaque entre as técnicas de tratamento (Lima et al. ¹⁰ 2019; Chankanka et al. ¹⁴ 2010).

2.3.3.1 Microabrasão

A microabrasão é uma técnica conservadora amplamente utilizada como método único ou associada a outros procedimentos odontológicos para clarear ou remover manchas do esmalte dentário. É um tratamento simples que permite remover manchas brancas, estrias, coloração acastanhada ou pigmentação devido à desmineralização, de forma rápida, eficaz e conservadora. A técnica baseia-se na micro-redução química e mecânica do esmalte superficial, respeitando as camadas internas do esmalte hígido localizadas abaixo das camadas superficiais, portanto, a técnica não implica em desconforto pós-operatório para os pacientes tratados.

A técnica baseia-se essencialmente na remoção das camadas superficiais e é utilizada para tratar peças dentárias com alterações de cor no esmalte que não exceda 0,2 mm de profundidade. É indicado em casos de: irregularidades na textura do esmalte; defeitos estruturais do esmalte superficial, normalmente pigmentados; lesões precoces de cárie; manchas brancas; manchas produzidas após tratamento ortodôntico; hipoplasia do esmalte; amelogenese imperfeita; fluorose leve ou moderada (Baglar, 2014)

A microabrasão é baseada na aplicação de um gel de condicionamento, sendo o ácido clorídrico o mais utilizado, associado com um abrasivo e seguido de polimento com peça de mão em baixa rotação. O ácido clorídrico na porcentagem de 18% foi proposto em 1986 como a dose ideal para conseguir o efeito desejado.(Croll e Cavanaugh²⁷ 1986) A principal desvantagem desse procedimento, é o risco de danos aos tecidos periodontais subjacentes ao dente(Price et al.⁵⁴ 2003). Estudos posteriores relataram que a concentração de ácido empregada desempenha um papel importante na quantidade de redução do esmalte (Loguercio et al.²⁸ 2007; Pini et al.³⁰ 2015), fazendo com que os novos microabrasivos contenham menor porcentagem de ácido clorídrico.

Baseado no princípio do uso de ácido com abrasivo, foi descrito o uso de ácido ortofosfórico com pedra pomes (Mondelli et al.⁵⁵ 1995). A técnica descreve a aplicação de ácido fosfórico a 37%, associado à pedra pomes de granulação extrafina, em proporções volumétricas iguais, formando uma pasta mais consistente. A vantagem de se utilizar ácido fosfórico é principalmente a possibilidade de uma alternativa mais segura e eficiente para este tipo de tratamento, além de ser uma substância de fácil acesso aos profissionais, devido ao seu emprego rotineiro em

procedimentos restauradores (de Andrade E Silva et al.⁵⁶ 2015). Além disso, o ácido fosfórico é menos danoso se houver algum contato acidental com a pele, mucosas ou olhos do paciente e profissional.

2.3.3.2 Macroabrasão

Nesta técnica é utilizada uma combinação de brocas ou discos de polimento para eliminar o esmalte superficial afetado. Na literatura, a macroabrasão aparece como uma técnica isolada (Amarlal et al.⁵⁷ 2006) ou como uma técnica combinada (Natera et al.⁵⁸ 2017; Sundfeld et al.⁵⁹ 2019; Sundfeld et al.⁶⁰ 2014; Sundfeld et al.⁶¹ 2014). Croll (1990) descreveu esta técnica previa à microabrasão, onde era utilizada brocas de diamante de granulação fina para conseguir fazer uma microredução na superfície do esmalte. (Croll⁶² 1990) O principal objetivo desta técnica foi proporcionar melhores resultados com mínimo desconforto para o paciente e satisfação para o paciente e responsáveis. Com a eliminação de dique de borracha e outras preocupações de segurança para o paciente, o nível de desconforto foi minimizado.

Bodden e Haywood (2003) avaliaram opções de instrumentos a serem utilizados nesta técnica, fazendo três combinações de instrumentação (Bodden e Haywood⁶³ 2003):

- a) Broca diamantada e dois tipos de pasta de polimento diamantada
- b) Broca diamantada, discos flexíveis e de polimento.
- c) Broca de metal duro e discos flexíveis

As vantagens da macroabrasão que descrevem na literatura são que a técnica é mais rápida, tanto no procedimento, remoção dos defeitos e resultados imediatos; requer de uma menor quantidade de materiais; a constante irrigação de ar e água durante o tratamento mantém uma melhor visibilidade dos defeitos; as brocas conseguem eliminar as manchas resistentes à técnica de microabrasão (Bodden e Haywood⁶³ 2003; Croll e Donly⁶⁴ 2013). No entanto a macroabrasão precisa de experiência e controle por parte do operador, para uma remoção mínima e suficiente da superfície do esmalte com fluorose dentária.

2.3.3.3 Clareamento externo

O clareamento de dentes fluoróticos vitais com vários tipos de peróxidos que produzem íons peróxidos para penetrar no esmalte e nos túbulos dentais tem como finalidade de reduzir o contraste entre lesões com manchas brancas e esmalte sólido com respeito à dentina. (Higashi et al. ⁶⁵ 2008)

O clareamento de dentes vitais pode ser realizado no consultório ou em casa. O tratamento em casa, também chamado de clareamento noturno aplica um nível relativamente baixo de agente clareador aos dentes por meio de um protetor bucal personalizado, que é usado todas as noites por pelo menos duas semanas (Haywood ⁶⁶ 2005). O clareamento em consultório usa níveis relativamente mais altos de agentes clareadores, como o peróxido de hidrogénio de 25–35%, por períodos de tempo mais curtos. O gel clareador é aplicado nos dentes após a proteção dos tecidos moles. (Haywood ⁶⁶ 2005)

Após alguns tratamentos para fluorose dentária, tem se observado que os dentes mostram uma aparência mais amarelada, pois cor da dentina é mais refletida. Assim, esse procedimento tem sido associado com outros tratamentos para fluorose dentária (Castro et al. ²⁹ 2014; Pini et al. ³⁰ 2015; Higashi et al. ⁶⁵ 2008; Schoppmeier et al. ⁶⁷ 2018; Alverson et al. ⁶⁸ 2021).

2.3.3.4 Resina Infiltrativa

A infiltração do esmalte com resinas fotopolimerizáveis de baixa viscosidade foi inicialmente desenvolvida para inibir lesões de cárie incipientes, mas tem sido aplicada recentemente no mascaramento de manchas fluoróticas, devido ao índice de refração semelhante ao do esmalte e da resina. O tratamento tem demonstrado ser eficaz para tratar as manchas por fluorose dentária. (Di Giovanni et al. ²¹ 2018; Alverson et al. ⁶⁸ 2021)

Este tratamento utiliza uma resina que pode infiltrar o tecido dentário não cavitado, sem a necessidade de remover o tecido saudável (Icon®, DMG, Alemanha). O princípio do tratamento é a infiltração da resina nas microporosidades das lesões, eliminando sua aparência branca e mimetizando-as com o esmalte. O produto para o tratamento contém três materiais colocados em seringa. A primeira seringa contém ácido clorídrico a 15% (Icon-etch®), o que permite condicionar o esmalte. A segunda seringa contém etanol (Icon-dry®), cuja função é remover a umidade das

microporosidades criadas pelo Icon-etch®. A terceira seringa contém uma resina infiltrante fotopolimerizável de baixa viscosidade à base de TEGDMA (Icon-Infiltrant®).(Yang et al. ⁶⁹ 2012)

A resina infiltrante Icon® utiliza gel de ácido clorídrico a 15% (HCL) como agente de condicionamento, obtendo uma penetração de 37 µm aplicado por 120 segundos. O uso do etanol, além de servir como agente secante para a superfície do esmalte, diminui a viscosidade da resina infiltrante, bem como seu ângulo de contato, aumentando assim o coeficiente de penetração da resina. A resina infiltrante fotopolimerizável de baixa viscosidade é composta por TEGDMA como principal matriz orgânica, pois possui maior coeficiente de penetração(Askar et al. ⁷⁰ 2015).

A forma de aplicação da resina é importante para que o tratamento seja eficiente (Yang et al. ⁶⁹ 2012; Meyer-Lueckel et al. ⁷¹ 2011; Zotti et al. ⁷² 2020). A realização de duas aplicações da resina aumenta a dureza e resistência à desmineralização da lesão tratada. O tempo de aplicação aumenta o coeficiente de penetração, sendo recomendado um tempo de 3 minutos. Retirar o excesso de resina antes de fotopolimerizá-la, facilitará a segunda aplicação e reduzirá a possibilidade de abrasão da resina.

2.3.3.5 Desmineralização-remineralização

Esta técnica foi criada no México, a partir do desenvolvimento de um material denominado de Antivet Kit® (Antivet®, MDC Dental, Jalisco, México). Este tratamento foi proposto para remover manchas que aparecem na superfície do esmalte dos dentes devido à fluorose dentária ou qualquer outro fator externo.

Por meio de uma reação de troca iônica, a superfície do dente é exposta a uma solução ácida que reage com o flúor absorvido nos cristais de apatita (Panday ³⁴ 2021). Essa reação permite a separação dos íons fluoreto dos cristais de apatita, formando sais solúveis que são facilmente removidos da superfície do esmalte dentário (Karakowsky Kleiman e Fierro Velázquez ³³ 2019). Uma vez que as manchas são removidas, uma solução de hidróxido de cálcio é aplicada para neutralizar o resíduo da solução ácida (Panday ³⁴ 2021).

O tratamento é realizado em duas fases, a fase ácida e a fase alcalina. A base ácida é um ácido clorídrico a 21% estabilizado com um ácido tricarbóxico orgânico, com pH controlado < 3, necessário para reagir com os íons flúor formando sais, base

pela qual limpa a estrutura do esmalte dos dentes, removendo os íons de substâncias orgânicas e inorgânicas que ocupam os espaços entre os cristais de fluorapatita. A base alcalina ou neutralizante é um hidróxido de cálcio com $\text{pH} > 12$, que, por meio de uma reação de neutralização o ácido atua remineralizando a superfície dentária. (Karakowsky Kleiman e Fierro Velázquez ³³ 2019; Bauer et al. ³⁵ 2021)

2.3.3.6 Restaurações diretas

Para este tipo de tratamento é utilizada a resina composta que é um material que tem sofrido mudanças marcantes em sua composição, melhorando as suas propriedades para tornar-se dos materiais mais populares para restauração direta. Com respeito ao seu desempenho, a resina composta mostrou num estudo uma vida útil de 22 anos, com uma taxa anual de falhas menor que 3% em restaurações posteriores. (Da Rosa Rodolpho et al. ⁷³ 2011) Para restaurações anteriores tem se reportado na literatura uma taxa de sobrevivência de 85% depois de 3 anos. (Moura et al. ⁷⁴ 2011)

Na fluorose dentária, a técnica é utilizada em pacientes com um grau moderado a severo. Um estudo que avaliou o impacto de restaurações diretas em uma população endêmica com fluorose dentaria menciona que houve uma melhora significativa na prevalência e gravidade, bem como na extensão do impacto funcional e psicossocial. (Santa-Rosa et al. ⁷⁵ 2014) O desempenho clínico das restaurações diretas com resina composta em pacientes com fluorose dentária tem mostrado resultados satisfatórios na literatura. (Santa-Rosa et al. ⁷⁵ 2014; Sekundo e Frese ⁷⁶ 2020; Cavalheiro et al. ⁷⁷ 2020; Mangani et al. ⁷⁸ 2007)

No caso da seleção da resina composta, o tipo de sistema adesivo, tipo de fotopolimerizador, outros materiais e equipamentos, é fundamental para não afetar o desempenho clínico. Num estudo de Demarco et al. (2013) avaliaram as preferências técnicas de dentistas ao fazer restaurações anteriores de resina composta, concluindo que houve preferência para utilizar resina composta microhíbrida, sistema adesivo de condicionamento total de 2 passos e fotopolimerizador LED. (Demarco et al. ⁷⁹ 2013).

2.3.3.7 Restaurações indiretas

Em casos de fluorose dentária de moderada a severa, tratamentos protésicos precisam ser utilizados. O esmalte tem tendência a fratura, o que resulta em

descoloração significativa e defeitos substanciais na estrutura do esmalte, necessitando do uso de restaurações indiretas. Várias modalidades terapêuticas têm sido descritas para a abordagem de formas moderadas e severas de fluorose dentária. A abordagem restauradora deve ser analisada corretamente, pois indivíduos jovens procuram os tratamentos, fazendo com que o operador utilize técnicas minimamente invasivas. (Hosney et al. ⁸⁰ 2022)

As facetas cerâmicas podem ser uma opção devido à sua manutenção da cor, resistência ao desgaste e biocompatibilidade. As facetas cerâmicas podem mascarar completamente o dente com fluorose dentária, com redução mínima da substância do dente, pois requerem um preparo minimamente invasivo. (El Mourad ⁸¹ 2018) Além disso, os avanços nos materiais cerâmicos facilitaram esse processo. As facetas cerâmicas proporcionam uma reabilitação estética previsível e duradoura. A durabilidade e o sucesso clínico das facetas de porcelana têm sido amplamente investigados na literatura. (Peumans et al. ⁸² 2000) Tem sido relatado que as facetas cerâmicas proporcionam uma restauração durável e bem-sucedida com uma probabilidade de sobrevivência estimada de 93,5% ao longo de 10 anos. (Beier et al. ⁸³ 2012) Resultados satisfatórios foram obtidos em um casos com fluorose dentária restaurados com facetas laminadas de porcelana com resultados estéticos aceitáveis em casos de fluorose moderada a severa. (Hosney et al. ⁸⁰ 2022; Lee et al. ⁸⁴ 2021)

Outra opção de tratamento são as coroas totais em casos graves de fluorose dentária. As coroas totais se estabelecem como um tratamento restaurador duradouro precoce para indivíduos jovens afetados por fluorose grave, já que podem reduzir o custo geral do tratamento, aumentar sua autoestima e melhorar sua qualidade de vida relacionada à saúde bucal em longo prazo. (Lee et al. ⁸⁴ 2021) O uso de coroas cerâmicas como substituição estética do esmalte defeituoso foi relatado como tendo uma maior taxa de sobrevivência após um período médio de observação de 5,5 anos. (Lundgren et al. ⁸⁵ 2018) As coroas totalmente cerâmicas com preparos conservadores podem ser uma opção de tratamento viável sem grandes resultados adversos, pois a estrutura dentária removida durante a preparação do dente é mínima. (Edelhoff e Sorensen ⁸⁶ 2002)

3 PROPOSIÇÃO

3.1 PROPOSIÇÃO GERAL

Verificar *in vitro* os efeitos produzidos na superfície do esmalte fluorótico submetido aos tratamentos de desmineralização - remineralização e microabrasão, por meio dos testes de aderência bacteriana, Perfilometria ótica, análise qualitativa em Microscópio eletrônico de Varredura por efeito de campo e espectrofotômetro RAMAN

3.2 PROPOSIÇÕES ESPECÍFICAS

- 1) Descrever o aspecto da superfície do esmalte fluorótico antes e após os tratamentos, comparando sua efetividade.
- 2) Analisar se ocorrem alterações na aderência bacteriana ao esmalte fluorótico com os tratamentos propostos
- 3) Verificar por meio microfotografias a morfologia da superfície do esmalte fluorótico antes após os tratamentos de desmineralização - remineralização e microabrasão.
- 4) Examinar o perfil químico da superfície do esmalte fluorótico antes e após os tratamentos estéticos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO

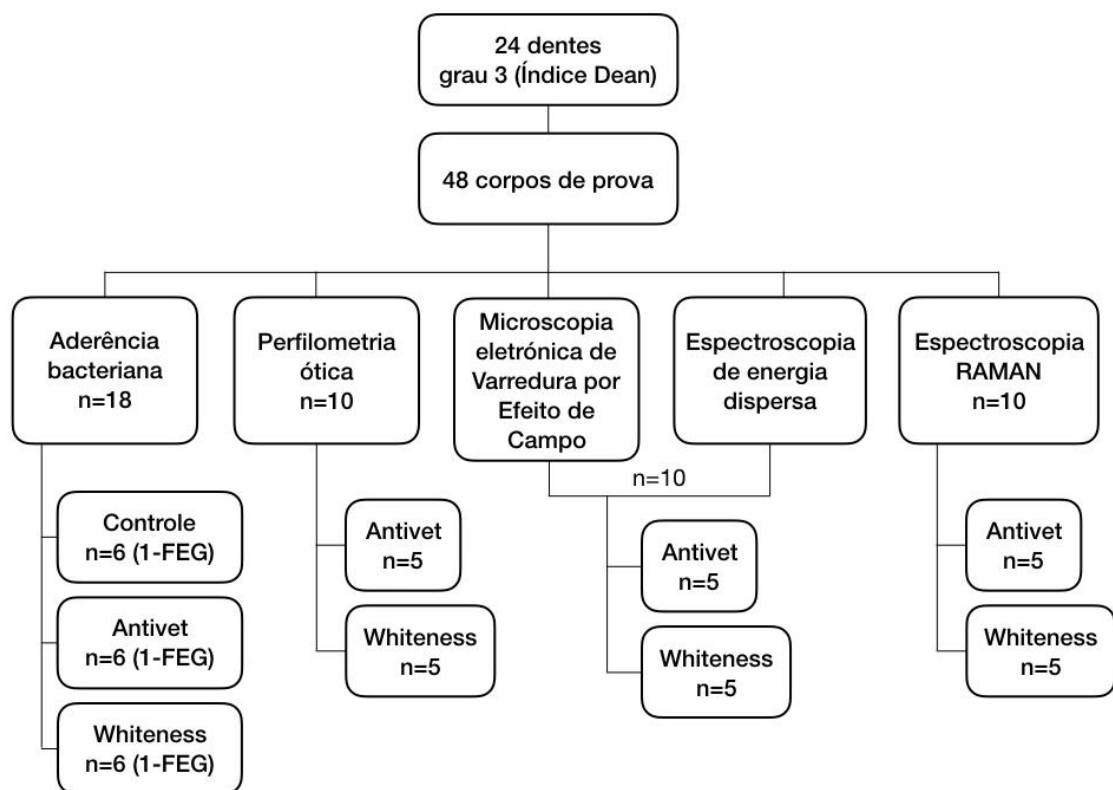
Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEP/UEPG), conforme o parecer 3.297.135. Foram realizados os ensaios *in vitro* de: Aderência Bacteriana (AB), Avaliação da superfície de esmalte fluorótico em Perfilômetro ótico (PO), Microscopia Eletrônica de Varredura por efeito de campo (FEG), Espectrometria de energia dispersiva de raios X (EDS) e Espectrometria RAMAN (RAMAN).

No Banco de Dentes Humanos da UEPG, foram examinados pré-molares humanos hígidos (sem lesões de cárie ou fraturas), sendo selecionados por dois examinadores calibrados, 24 pré-molares classificados no grau 3 de fluorose segundo índice de Dean (Dean ⁶ 1956).

Os dentes foram desinfetados em cloramina 0,5% e armazenados em água destilada, trocada semanalmente até sua utilização. Desses dentes foram confeccionados os corpos de prova (ver 4.2) para realizar os testes propostos na pesquisa, os quais foram distribuídos em grupos conforme mostrado na Figura 1.

Para o cálculo amostral, tomou-se como base aos artigos publicados, em um deles é mencionado que um estudo *in vitro* precisa de pelo menos 3 amostras para cada grupo experimental (Armstrong et al. ⁸⁷ 2017) e no outro foram empregados 6 corpos de prova para cada grupo de estudo. (Perdigão ⁸⁸ 2020) Por tanto, para aderência bacteriana foram utilizadas 6 amostras e para os demais testes, 5 corpos de prova por cada grupo experimental.

Os corpos de prova foram tratados com Antivet® (Figura 2; Antivet kit®, MDC dental, Jalisco, México) ou Whiteness RM (Figura 3; FGM Joinville-SC, Brasil) sendo que a composição de cada material e seu protocolo de uso estão descritos no QUADRO 2.

FIGURA 1. Distribuição dos grupos experimentais do estudo.

Fonte: a autora

QUADRO 2. Composição e modo de uso dos materiais experimentais

MATERIAL	COMPOSIÇÃO	MODO DE USO
Antivet® (MDC Dental, Jalisco México)	Base ácida - Ácido hidroclórico 21% - Ácido orgânico tricarbóxico	1. Colocar isolamento absoluto nos dentes a tratar 2. Colocar o paciente em posição de 45° na cadeira 3. Colocar 5 gotas da base ácida no copo de plástico 4. Aplicar a base ácida no dente com uma bolinha de algodão e esfregar suavemente. Se o algodão se mancha, troque ele por um novo embebido com a base ácida 5. Repetir o passo 4 até que a mancha desapareça. O processo pode durar de 1 a 5 minutos por dente, com tempo máximo de 15 minutos desde o contato inicial. 6. Limpar com uma bolinha de algodão os excessos. Não lavar. 7. Colocar a base alcalina no copo de plástico. 8. Aplicar a base alcalina em todo o dente com um pincel ou microbrush e deixar atuar por 2 minutos. 9. Retirar o isolamento e enxaguar.
	Base alcalina - Hidróxido de cálcio	
Whiteness RM® (FGM, Joinville, Brasil)	- Ácido clorídrico 6,6% - Carboneto de silício 6,6%	1. Aplicar uma fina camada sobre a superfície vestibular. 2. Aguardar 5 segundos. 3. Esfregar suavemente por 10 segundos. 4. Remover material com água. 5. Repetir etapas 1, 2, 3 e 4 por até mais 4 vezes. 6. Enxaguar abundantemente.

Descrição obtida de: MDC Dental e FGM Dental Group

FIGURA 2. Fotografia do material Antivet®.



Fonte: a autora

FIGURA 3. Fotografia do material Whiteness RM®.



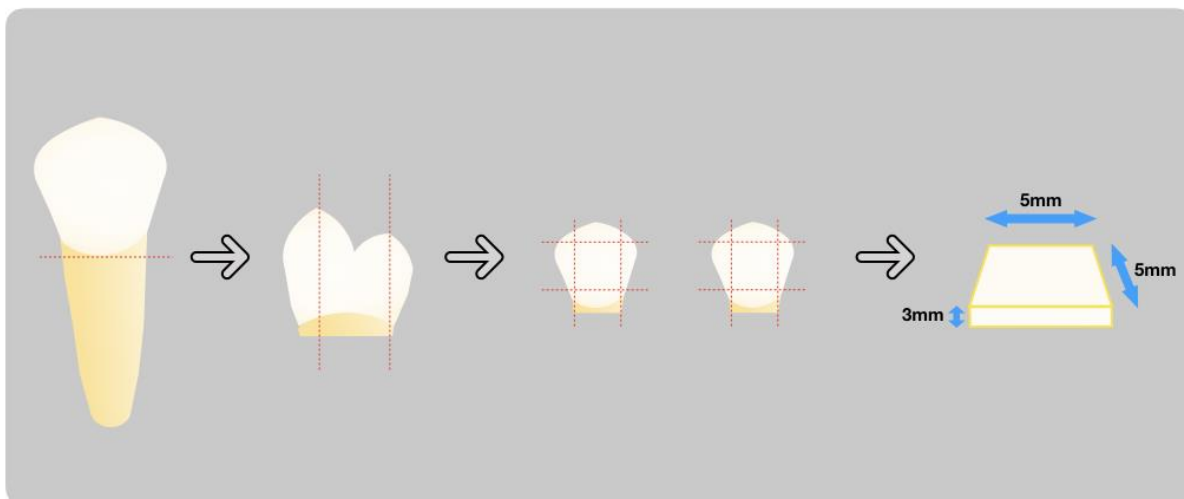
Fonte: FGM Dental Group

4.2 CONFECÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

A raiz de todos os dentes foi removida seccionando-se a peça até o limite amelo-cementário com auxílio de uma máquina de corte (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA) e de um disco diamantado (Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA) sob irrigação a 300 rpm. Em seguida, a coroa de cada dente foi seccionada nas suas faces vestibular e lingual, e dessas duas porções foram obtidos quadrados do mesmo tamanho (5x5x3mm) recortando-se novamente cada uma das superfícies conforme mostrado na Figura 4. (Perdigão ⁸⁸ 2020) Dessa forma, foram preparados dois corpos de prova (CP) de cada dente, totalizando 48 CP, armazenados em água

destilada à 37°C e depois distribuídos para cada teste experimental, como descrito na Figura 1.

FIGURA 4. Confeção dos corpos de prova.



Fonte: a autora

4.3 TESTE DE ADERÊNCIA BACTERIANA

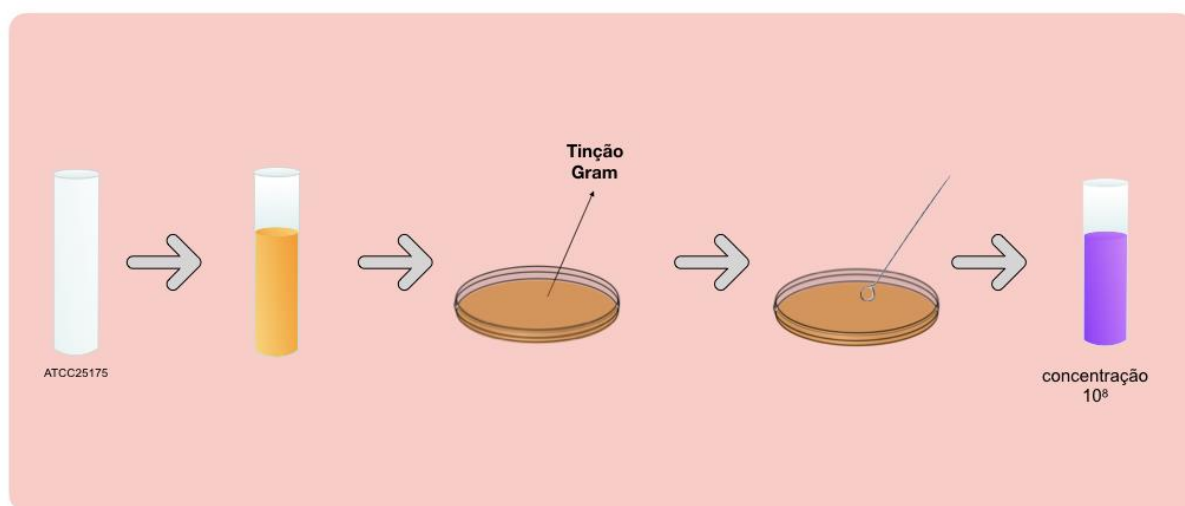
Foram utilizados para este teste 18 CP divididos em três grupos; o grupo 1 foi o controle, que não recebeu tratamento; o grupo 2 recebeu tratamento com Antivet® e o grupo 3, foi tratado com o Whiteness RM®. O tratamento com esses materiais foi realizado seguindo as instruções do fabricante (QUADRO 2). (Nogueira et al. ⁸⁹ 2017) Um CP de cada grupo foi utilizado para avaliação em Microscópio Eletrônico de Varredura por efeito de campo (FEG).

4.3.1 Preparo de microrganismo

Streptococcus mutans (S. mutans, ATCC25175) foi cultivado em microaerofilia durante 48 h com 5% de CO₂ à 37°C em caldo BHI (infusão cérebro e coração, Kasvi, Curitiba, PR, Brasil) e após em placas petri com ágar BHI por 48 h em microaerofilia. O cultivo em ágar foi repetido três vezes, até obter uma confluência das colônias (Figura 5). Por meio da Técnica da coloração de Gram (Bartholomew e Mittwer ⁹⁰ 1952; Tripathi e Sapra ⁹¹ 2021) foi observado o cultivo da bactéria e a ausência de microrganismos contaminantes. Na Figura 6 observa-se os *Streptococcus mutans*

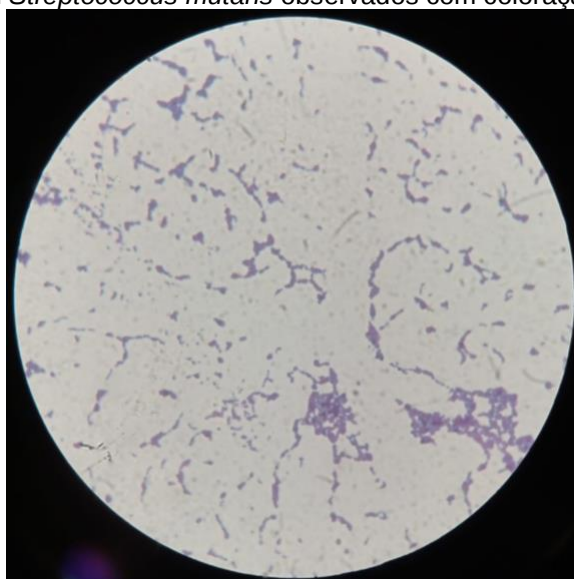
com coloração de Gram, no microscópio ótico à 100x. Com o auxílio da alça de platina, coletou-se o microrganismo que já estava na forma de colônia, inoculando-o em um tubo de ensaio contendo tampão fosfatado PBS (Phosphate Buffer Solution). Sob agitação por aproximadamente 1 min, o microrganismo foi preparado na concentração padrão 10^8 . Toda esta sequência foi feita próxima ao bico de Bunsen e dentro do fluxo laminar para evitar contaminação. (da Silva et al. ⁹² 2007)

FIGURA 5. Preparo de microrganismos.



Fonte: a autora

FIGURA 6. *Streptococcus mutans* observados com coloração de Gram.



Fonte: a autora

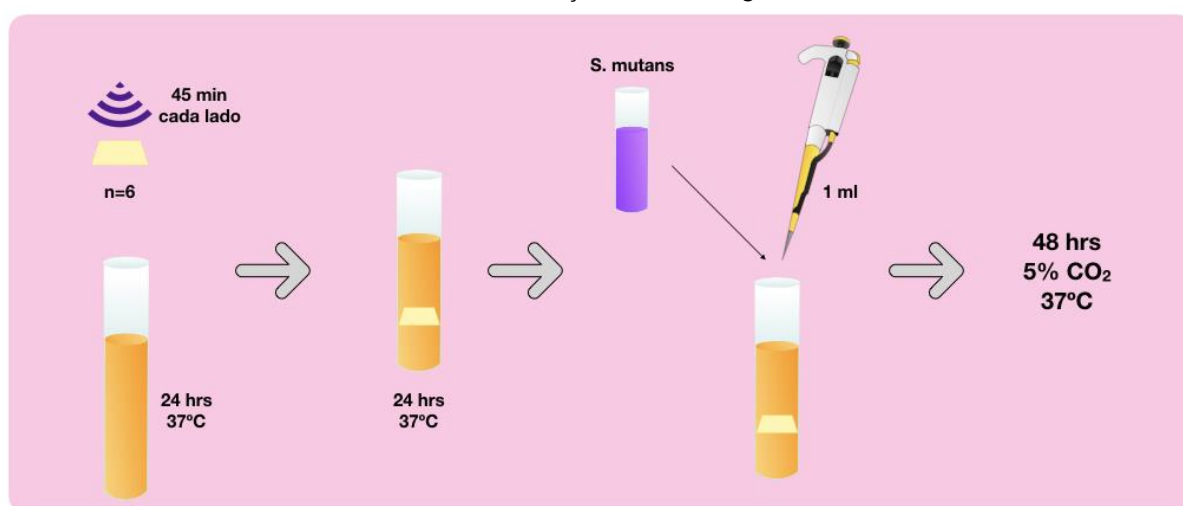
4.3.2 Inoculação de microrganismos

Os tubos de ensaio contendo 5 mL de caldo BHI, foram levados a estufa por 24 h a 37°C, com o objetivo de testar a esterilidade do meio. A desinfecção dos CP foi feita por meio da exposição à luz ultravioleta durante 45 minutos em cada lado no fluxo laminar. Este método é efetivo para uma desinfecção completa do esmalte sem afetar a sua estrutura nem a superfície tratada. (Viana et al. ⁹³ 2010; Arroyo et al. ⁹⁴ 2014)

Após a desinfecção dos CP, eles foram transferidos para os tubos de ensaio com caldo BHI estéril e colocados em estufa por 24h a 37°C, com o objetivo de avaliar se a desinfecção foi efetiva, mediante a observação da turbidez do meio após as 24h.

O próximo passo foi adicionar aos tubos 1 ml de suspensão de *S. mutans*. Em seguida, os tubos contendo *S. mutans* foram levadas à estufa bacteriológica em microaerofilia com 5% de CO₂ a 37°C por 48 h, com a finalidade de promover aderência dos microrganismos aos CP (Figura 7). Toda esta sequência foi feita próxima ao bico de Bunsen e dentro do fluxo laminar para evitar contaminação. (Simmons et al. ⁹⁵ 2016; Garcia et al. ⁹⁶ 2017)

FIGURA 7. Inoculação dos microrganismos.

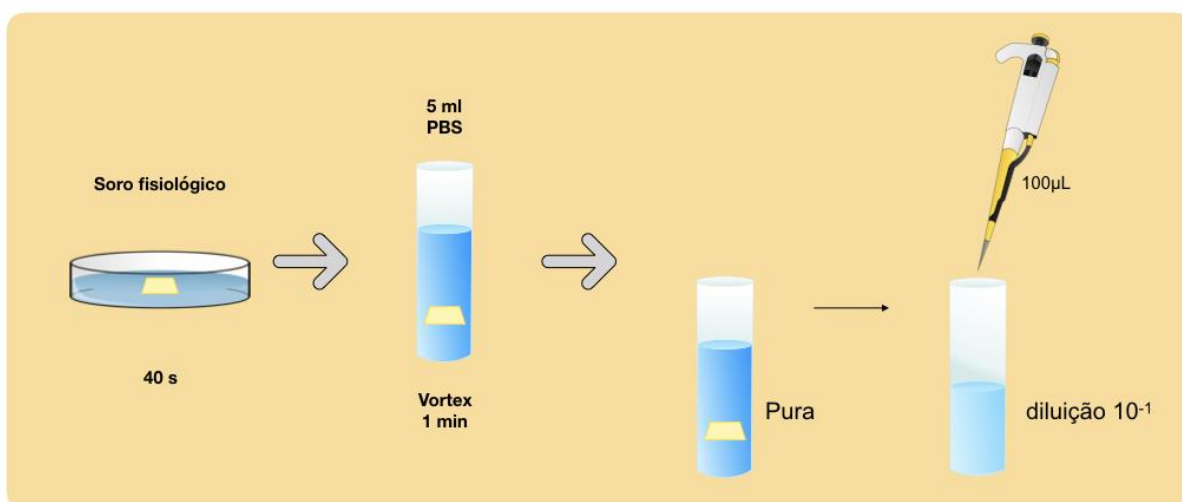


Fonte: a autora

4.3.3 Remoção de microrganismos aderidos e não aderidos

Após 48 h os CP foram retirados dos tubos de ensaio utilizando uma pinça estéril e lavados gentilmente com solução fisiológica por 40 s para a remoção dos microrganismos não aderidos. Em seguida, os CP foram colocados em tubos de ensaio contendo 5 ml de solução salina estéril e agitados em vórtex por 1 min para desprendimento dos microrganismos aderidos. Toda esta sequência foi feita próxima ao bico de Bunsen e dentro do fluxo laminar para evitar contaminação. (Simmons et al. ⁹⁵ 2016; Segura et al. ⁹⁷ 1997) Dos tubos contendo a concentração pura do material desprendido, retirou-se 100µL do líquido para ser colocado em tubos de ensaio com 0,9 ml de solução salina e assim formar uma diluição com uma concentração de 10^{-1} (Figura 8).

FIGURA 8. Remoção dos microrganismos aderidos e não aderidos.



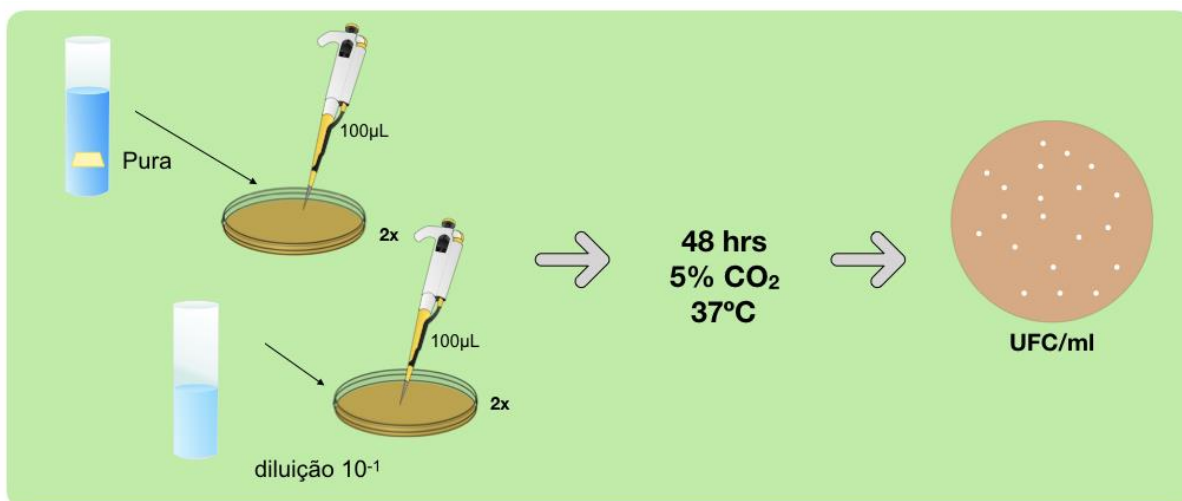
Fonte: a autora

4.3.4 Contagem de microrganismos aderidos

A solução que foi retirada dos tubos de ensaio com a concentração pura e a diluição foram semeadas em duplicatas, em placas Petri contendo meio de cultura BHI. Cada placa petri recebeu 100µL do líquido dos tubos. Toda esta sequência foi feita próxima ao bico de Bunsen e dentro do fluxo laminar para evitar contaminação. Em seguida, as placas foram colocadas em estufa bacteriológica durante 48 h com 5% de CO₂ a 37°C. Para finalizar, foi realizada a contagem das UFC/ml por dois

examinadores previamente calibrados. (Nogueira et al. ⁸⁹ 2017; Segura et al. ⁹⁷ 1997) Para a análise estatística foram utilizados os valores da diluição 10^{-1} (Figura 9).

FIGURA 9. Contagem dos microrganismos aderidos.

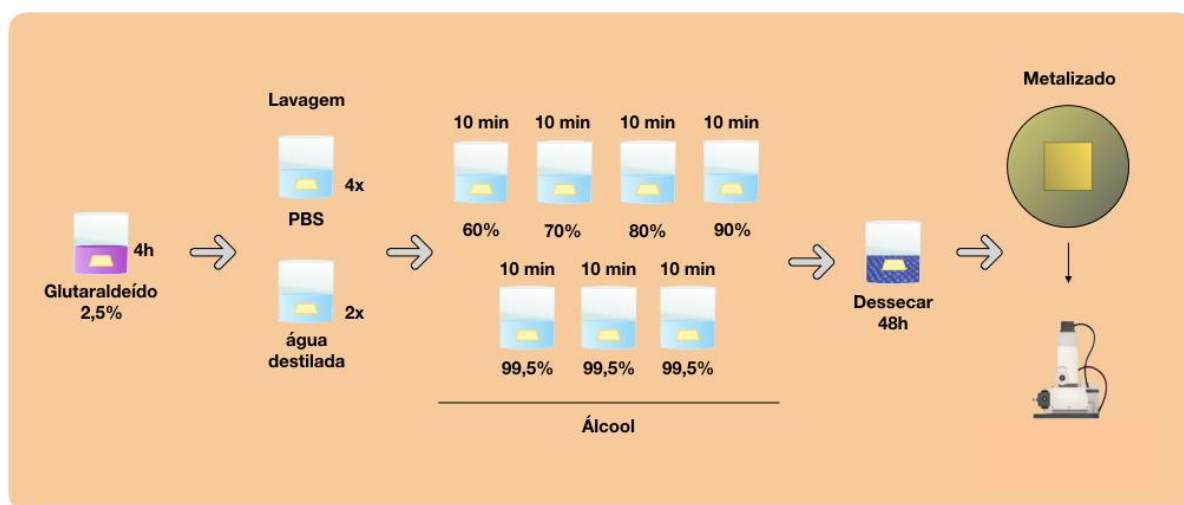


Fonte: a autora

4.3.5 Avaliação dos microrganismos no Microscópio

A avaliação foi feita com a finalidade de observar a distribuição das bactérias aderidas aos CP. Após realizar a aderência bacteriana, os CP foram fixados com glutaraldeído 2,5% durante 4 h, lavados quatro vezes com PBS, seguidos de dois banhos com água destilada e por último desidratadas em soluções de etanol de 60%, 70%, 80%, 90% e três vezes em 99,5%, por 10 min em cada solução de etanol. Posteriormente, foram submetidos à desidratação em dessecador por um período de 48 h. Os CP foram metalizados para depois serem realizadas as microfotografias no FEG (Figura 10). Três microfotografias foram obtidas em cada CP, sendo selecionada uma representativa. (Arroyo et al. ⁹⁴ 2014; Garcia et al. ⁹⁶ 2017)

FIGURA 10. Preparo para avaliação dos microrganismos no Microscópio.



Fonte: a autora

4.4 PERFILOMETRIA ÓTICA

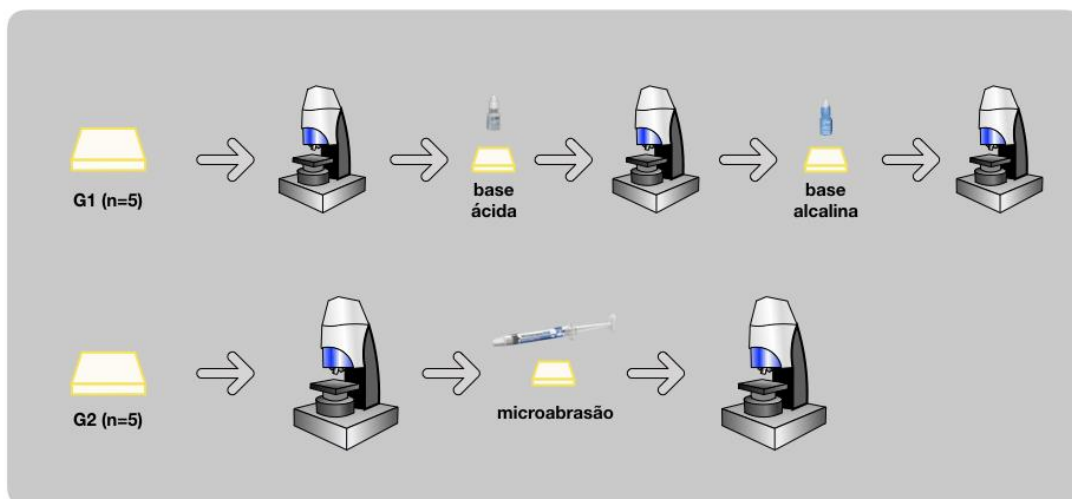
Foram utilizados 10 CP para avaliação qualitativa da superfície do esmalte e rugosidade superficial, por meio do Perfilômetro óptico 3D (Taylor Hobson CCI Lite) do laboratório de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa. Os CP foram divididos para cada grupo de tratamento (n=5): grupo 1 foi tratado com Antivet e grupo 2 foi tratado com Whiteness RM. (Ferreira et al. ⁹⁸ 2014)

As leituras foram feitas com uma velocidade de 500 $\mu\text{m/s}$ e com um aumento de 10x. As leituras foram realizadas em 3 tempos para o grupo Antivet (Inicial, após base ácida e após base alcalina) e em 2 tempos no grupo Whiteness (Inicial e após o tratamento), manipulando os materiais segundo as instruções do fabricante (QUADRO 2). Posteriormente, as leituras foram analisadas pelo software TalyMap Gold 6.2.6302 e ilustrados em imagens tridimensionais que possibilitam a visão da caracterização da superfície quanto a sua topografia e diferentes parâmetros de rugosidade, usando um *cut-off* de 0,08 mm (Straioto et al. ⁹⁹ 2005; Gurdogan et al. ¹⁰⁰ 2017).

As imagens tridimensionais são dados primários, onde observa se a forma topográfica da superfície dos CP utilizando cores para diferenciar entre a parte mais

alta do CP (vermelho-branco) até a parte mais baixa (verde-azul). Para obter os valores de rugosidade Ra (Rugosidade média quadrática da superfície), o software utilizou o filtro Gaussiano com um *cut-off* de 0,08mm.(Gurdogan et al. ¹⁰⁰ 2017) Na Figura 11 se descreve a metodologia aplicada para perfilometria ótica.

FIGURA 11. Preparo para avaliação da superfície no Perfilômetro ótico.



Fonte: a autora

4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA POR EFEITO DE CAMPO

Foram empregados 10 CP para avaliação qualitativa no esmalte por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura por efeito de campo (FEG) modelo MIRA3 LM (TESCAN Inc., Warrandale, PA, EUA) sendo 5 CP para cada tratamento. (Limandri et al. ¹⁰¹ 2016)

Inicialmente, para o grupo Antivet, os CP foram seccionados em três (sem separá-los); um terço não foi tratada com o material, o segundo terço foi tratado com a base ácida e o último terço foi tratado com a base ácida e alcalina. Para o grupo Whiteness, os CP foram divididos em dois (sem separá-los), uma metade não foi tratada e a outra foi tratada com o material. Os tratamentos seguiram o protocolo do fabricante (QUADRO 2).

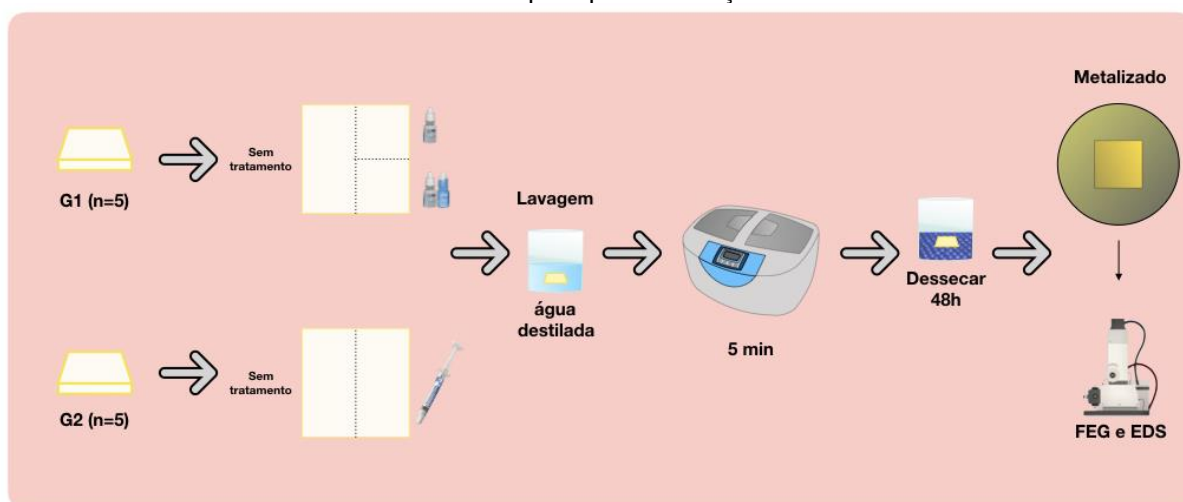
Ao término dos tratamentos, os CP foram lavados em água destilada, e depois colocados em banho ultrassônico durante 5 min e por último armazenados por 48h em desumidificador contendo sílica coloidal (Perdigão ⁸⁸ 2020). Os CP foram fixados em suporte metálico com uma fita condutora de carbono (Fita de carbono com revestimento duplo 8mm Wx120m L, PELCO Tabs™, UK) para depois serem

submetidos à metalização com liga ouro/paládio no equipamento especial (SC7620 Mini sputter coater, Qourum Technologies, East Sussex, UK, IC). As microfotografias foram obtidas após a visualização das amostras no aumento de 1500 vezes, empregando voltagens de aceleração de 10 e 15 kV. Três microfotografias foram obtidas de cada superfície tratada e as não tratadas, sendo selecionada uma representativa por cada.

4.6 ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (EDS)

Os elementos químicos flúor, fósforo e cálcio, presentes no esmalte, foram analisados por meio de espectroscopia de energia dispersiva de raio X (Oxford Instruments, Tubney Woods, Abingdon, UK) acoplado no FEG modelo MIRA3 LM (TESCAN Inc., Warrandale, PA, EUA). (Sauro et al. ¹⁰² 2008) As análises foram realizadas nos mesmos CP usados para avaliação qualitativa do FEG, sendo obtidos os dados do esmalte sem tratamento e após o tratamento, para os dois grupos. Na Figura 12 observa-se a metodologia para avaliação no FEG.

FIGURA 12. Preparo para Avaliação no FEG.



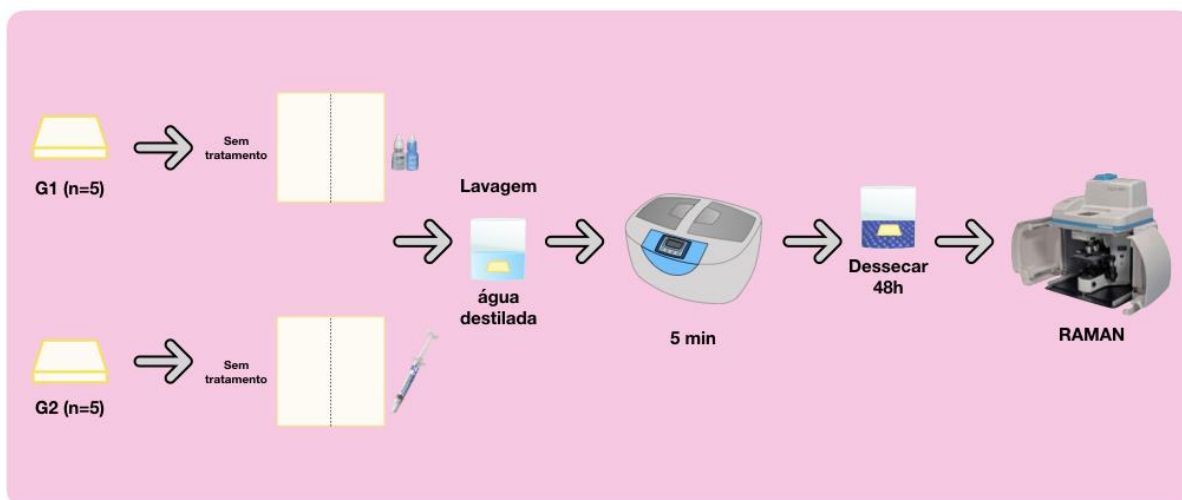
Fonte: a autora

4.7 ESPECTROSCOPIA RAMAN

Dez CP foram divididos em dois grupos (n=5) para serem submetidos aos tratamentos experimentais. Os CP foram divididos em duas porções (sem separá-los), sendo uma metade não tratada e a outra metade tratada com os materiais, seguindo o protocolo dos fabricantes (QUADRO 2). Após os tratamentos, cada CP foi lavado com água destilada, depositados no ultrassom por 5 min e finalmente colocados em dessecadores por 48h. Após esse procedimento, os CP foram levados ao micro-Raman (Senterra equipment, Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Baden-Württemberg, Alemanha) para avaliar a mineralização da superfície antes e após os tratamentos.

Antes das análises, o equipamento foi calibrado para redefinir o zero utilizando padrões de silício com valores de coeficientes conhecidos. Para o teste, o espectro usado foi um laser de comprimento de onda de 785 nm, com de 1200 mW de potência; resolução espacial de $\approx 1,5 \mu\text{m}$; Resolução espectral de $\approx 520 \text{ cm}^{-1}$, com 10 s de tempo de acumulação, em magnificação de 20X para um laser de $\approx 1 \mu\text{m}$ de diâmetro. A análise foi iniciada obtendo-se os espectros com os picos de referência de áreas do esmalte não tratado.

Para as leituras, uma área do dente foi delimitada para avaliação. Cada área teve aproximadamente 10 leituras e cada ponto de aquisição foi colocado a $5 \mu\text{m}$ de distância para cobrir até uma distância de $100 \mu\text{m}$ da superfície do esmalte. Todas as aquisições espectrais foram realizadas no intervalo de $300\text{--}2.000 \text{ cm}^{-1}$. O software Wire (Renishaw, Gloucestershire, UK) foi usado para processar os dados. A subtração da base de interpolação spline cúbica foi usada para remover a amostra de fluorescência de fundo do espectro, e o espectro foi suavizado para identificar os picos. (Mohanty et al. ¹⁰³ 2013) A Figura 13 ilustra o preparo para avaliação no espectrômetro RAMAN.

FIGURA 13. Preparo para Avaliação no Espectrômetro RAMAN.

Fonte: a autora

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A média e desvio padrão foram calculados para os testes quantitativos. Para o teste de aderência bacteriana, os dados foram submetidos ao teste Shapiro-Wilk como teste de normalidade, sendo que os dados tiveram que ser transformados usando o $\log_{10}$, para após serem submetidos ao teste ANOVA de um fator. Para o teste de rugosidade linear na perfilometria ótica, a média dos valores foram submetidos ao teste ANOVA de dois fatores e teste Tukey para múltipla comparação. Para o teste de espectrometria de energia dispersa de raios X, a média dos valores foram submetidos ao teste ANOVA de um fator e teste Tukey para múltipla comparação. A análise estatística foi pré-estabelecida com nível de significância $\alpha = 0,05$, utilizando um pacote de software estatístico (GraphPad Prism 6.0, San Diego, CA, USA).

5 RESULTADOS

5.1 ADERÊNCIA BACTERIANA

Na tabela 1 encontram-se os resultados da contagem de UFC/ml de *S. mutans*. Nota-se que os grupos Antivet e Whiteness não apresentaram diferenças significativas ($P= 0,3321$), quando comparados ao controle.

TABELA 1. Média e desvio padrão das unidades formadoras de colônia (UFC/ml)

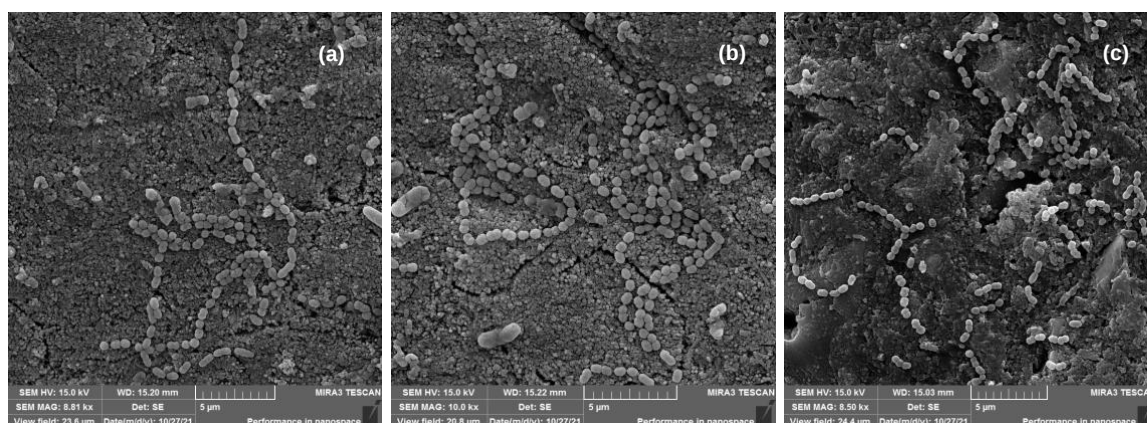
	UFC/ml
Controle	1,56 (0,77) A
Antivet	1,07 (1,38) A
Whiteness	1,90 (0,83) A

Letras iguais indicam resultados estatisticamente similares (Teste Tukey, $p \geq 0,05$)

5.1.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

A figura 14 ilustra os *S. mutans* na superfície do esmalte de cada grupo por meio das microfotografias no FEG, observando-se uma concordância com os resultados quantitativos da aderência bacteriana.

FIGURA 14. Microfotografia da distribuição dos *S. mutans* no esmalte.
(a) Grupo controle, (b) grupo Antivet e (c) grupo Whiteness.



5.2 PERFILOMETRIA ÓTICA

As figuras 15 e 16 ilustram a topografia da superfície do esmalte de cada material avaliado por meio do perfilmetro ótico. Observa-se a mudança da superfície do esmalte após a aplicação dos tratamentos. No esmalte não tratado, podemos observar a topografia do esmalte mostrando a parte mais alta do CP (vermelho-branco) e a parte mais baixa (verde-azul). Tanto no grupo de Antivet (Figura 15) e Whiteness (Figura 16) pode-se observar uma perda da estrutura pois os valores altos (vermelho-branco) desapareceram ou diminuíram de tamanho.

FIGURA 15. Imagens mostrando a topografia do esmalte no grupo Antivet. (a) esmalte não tratado, (b) esmalte após a aplicação da base ácida, (c) esmalte após a aplicação da base alcalina.

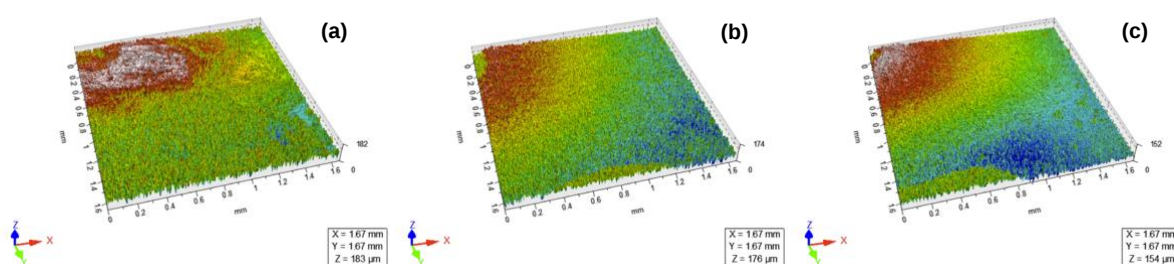
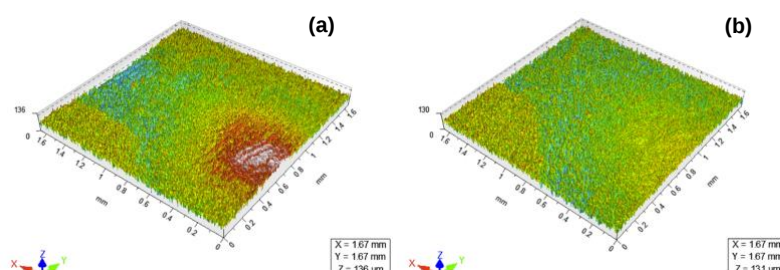


FIGURA 16. Imagens mostrando a topografia do esmalte no grupo Whiteness. (a) esmalte não tratado, (b) esmalte após a aplicação do material.



Na tabela 2 estão a média e desvio padrão da rugosidade obtida em 3D no perfilmetro ótico, antes e após a aplicação dos materiais estudados. Com respeito ao tempo, os materiais não apresentaram diferença significativa, no entanto, entre os

materiais, os valores após a aplicação do Antivet diminuíram, sendo diferente estatisticamente do inicial.

TABELA 2. Média e desvio padrão da rugosidade linear (Ra) (μm) antes e após os tratamentos

	Inicial	Final
Antivet	19,87 (5,37) Aa	13,90 (4,45) Ab
Whiteness	22,58 (3,87) Aa	20,52 (4,42) Aa

Letras iguais indicam resultados estatisticamente similares.

(Maiúsculas: tempo; minúsculas: materiais; teste Tukey, $p \geq 0,05$).

5.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA POR EFEITO DE CAMPO

Nas figuras 17 e 18 observa-se a superfície do esmalte antes e após dos tratamentos avaliados. No caso do grupo Antivet foi realizada uma microfotografia para mostrar o efeito da base ácida e da base alcalina. Na Figura 17 observa-se como a matriz do esmalte com fluorose (17a) foi removida após da aplicação da fase ácida do produto (17b) fazendo com que os prismas do esmalte sejam observados na imagem, para que após da fase alcalina observe-se uma deposição e recobrimento da superfície por parte do material (17c). Na Figura 18 observamos que, com respeito ao esmalte não tratado (18a), o esmalte tratado é mais rugoso e sem que os prismas possam ser distinguidos (18b).

FIGURA 17. Microfotografias da superfície do esmalte no grupo Antivet.

(a) esmalte não tratado, (b) esmalte após a aplicação da base ácida, (c) esmalte após a aplicação da base alcalina.

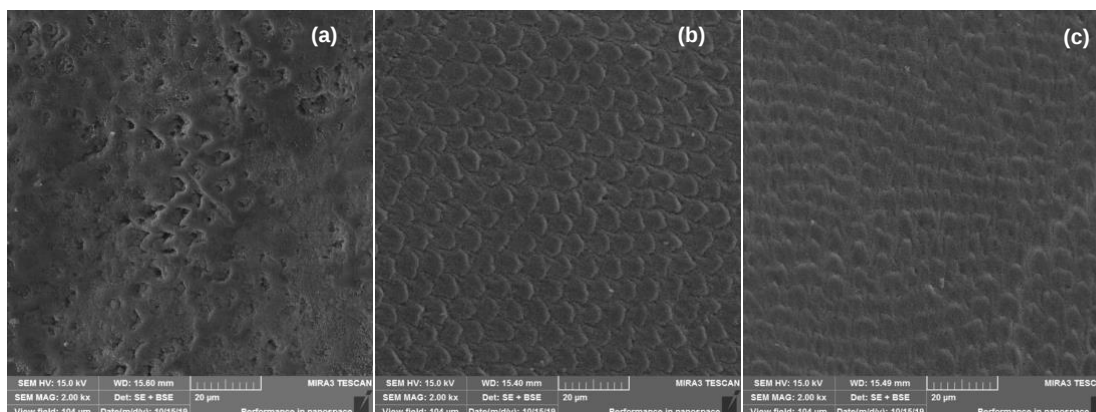
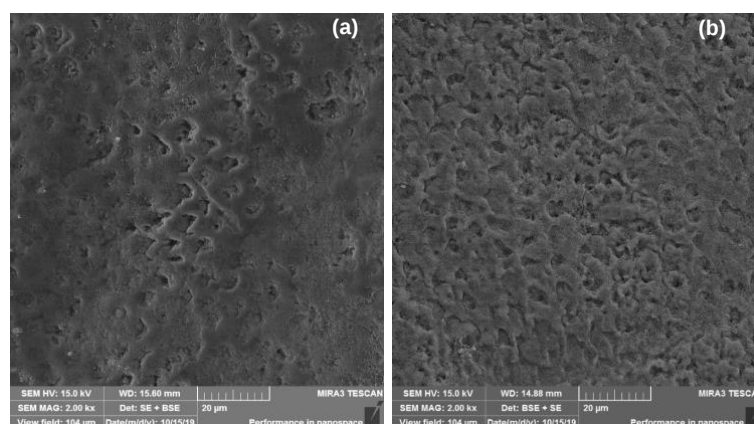


FIGURA 18. Microfotografias da superfície do esmalte no grupo Whiteness. (a) esmalte não tratado, (b) esmalte após a aplicação do material.



5.4 ESPECTOMETRIA DE ENERGIA DISPERSA DE RAIOS X

Na tabela 3 estão a média e desvio padrão das porcentagens dos elementos flúor, fósforo e cálcio presentes na superfície do esmalte, antes e após os tratamentos avaliados. No Antivet ocorreu um aumento do fósforo e cálcio após o tratamento. No Whiteness, os valores diminuíram nos três elementos.

TABELA 3. Média e desvio padrão das porcentagens dos elementos antes e após os tratamentos avaliados.

	ANTIVET		WHITENESS	
	% inicial	% final	% inicial	% final
Flúor	0,67 (0,39) A	0,02 (0,37) B	0,39 (0,38) A	0,39 (0,34) A
Fósforo	18,9 (0,35) A	19,43 (0,33) A	19,8 (0,24) A	18,75 (0,21) A
Cálcio	35,84 (0,29) A	36,18 (0,28) A	37,48 (0,33) A	36,96 (0,30) A

Letras iguais indicam resultados estatisticamente similares (Teste Tukey, $p \geq 0,05$)

5.5 ESPECTROMETRIA RAMAN

Na figura 19 e 20 apresentam-se os espectros dos materiais avaliados antes e após a aplicação na superfície do esmalte fluorótico. Os picos presentes no espectro são referentes ao fosfato. O fosfato tem quatro modos vibracionais internos: O pico mais

forte é observado em 961 cm^{-1} , que é atribuído ao modo de alongamento simétrico de fosfato. O pico em $1,045\text{ cm}^{-1}$ é assumido como proveniente do modo de alongamento assimétrico do fosfato. O pico em 591 cm^{-1} é atribuído ao modo de vibração de flexão assimétrica do fosfato. Por último, o pico 431 cm^{-1} atribui ao modo de vibração de flexão simétrica do fosfato. Nos dois tratamentos (Antivet e Whiteness), os picos tiveram uma tendência de aumentar após aplicação dos materiais.

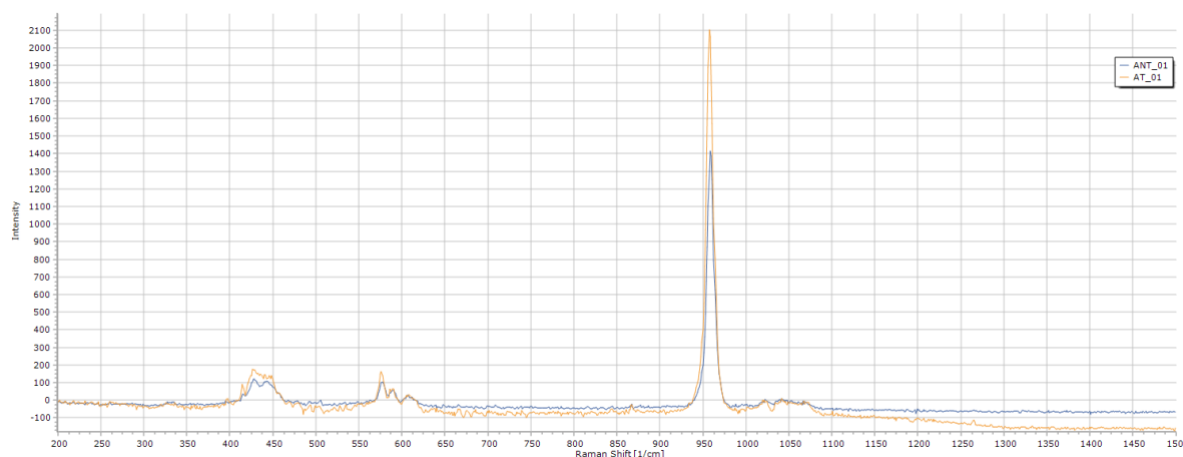


FIGURA 19. Espectro no grupo Antivet, antes (ANT) e após (AT) da aplicação do material.

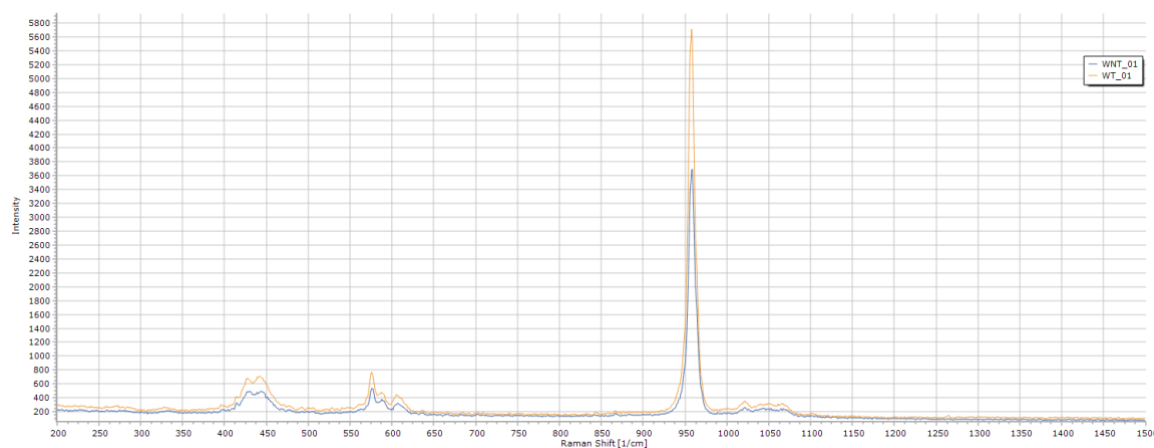


FIGURA 20. Espectro no grupo Whiteness, antes (WNT) e após (WT) da aplicação do material.

6 DISCUSSÃO

Observou-se clinicamente que os dentes expostos à microabrasão apresentam uma superfície de esmalte consideravelmente mais regular, lisa e polida, que aumenta com o tempo, modificando as propriedades ópticas do esmalte.(Pini et al. ³⁰ 2015) Este fenómeno foi denominado como "*abrosion effect*".(Donly et al. ¹⁰⁴ 1992) A abrasão dos prismas do esmalte combinado com a erosão ácida resulta no desenvolvimento de uma camada livre de prismas densamente compactada na superfície, que é capaz de refletir e refratar a luz de maneira diferente do esmalte não tratado, camuflando assim o pigmento. Isso pode ser devido à compactação e deposição de produtos de cálcio e fosfato resultantes da ação erosiva e abrasiva simultânea do composto. Estudos tem demonstrado que a superfície lisa do esmalte é mais resistente à colonização por *Streptococcus mutans*.(Nogueira et al. ⁸⁹ 2017; Arslan et al. ¹⁰⁵ 2015)

No teste de aderência bacteriana, ambos os tratamentos não apresentaram diferenças quando comparados ao controle. Uma camada de esmalte mais lisa, densa e mineralizada que é criada após os tratamentos para fluorose dentária que são menos favoráveis à colonização bacteriana, particularmente por *Streptococcus mutans*, como foi verificado no presente estudo, sugerindo que apesar das diferenças de concentração do ácido clorídrico e abrasivos dos materiais, os tratamentos não criaram condições favoráveis para colonização bacteriana. (Bayrak et al. ¹⁰⁶ 2017)

O efeito da microabrasão na superfície do esmalte tem sido estudado,(Pini et al. ³⁰ 2015; Pini et al. ¹⁰⁷ 2015) sendo que os efeitos erosivos e abrasivos dependem do tipo, concentração e pH do ácido utilizado, meio abrasivo, tempo de instrumentação, modo de aplicação e força aplicada.(Pini et al. ¹⁰⁷ 2015) No teste de perfilometria observou-se que na rugosidade linear, o tratamento microabrasivo não teve diferença significativa, no entanto, a rugosidade linear do material DES-RE diminui significativamente. Esse parâmetro foi confirmado na microfotografia da avaliação em FEG, onde o tratamento DES-RE aparenta ter uma superfície lisa. Este resultado pode ser devido à composição do material. O tratamento DES-RE que foi analisado nesta pesquisa apresenta ácido clorídrico ao 21% na sua composição e não apresenta nenhum abrasivo nas suas duas fases de aplicação. Na microfotografia do material DES-RE, os efeitos erosivos podem ser observados na fase ácida, com alterações na

micromorfologia do esmalte com exposição dos espaços interprismáticos, semelhantes aos padrões de condicionamento do esmalte. Já na fase alcalina, esses espaços tornam-se cobertos pela deposição do material na superfície, fato que pode ter contribuído para a diminuição da rugosidade superficial. Já no tratamento microabrasivo, o esmalte não apresentou diferença significativa após o tratamento, não alterando a rugosidade do esmalte. Rodrigues *et al* verificaram que a superfície do esmalte manteve a mesma rugosidade em todas as etapas avaliadas quando este foi tratado mecanicamente com um polidor de silicone, independente do microabrasivo, sugerindo que o efeito químico do tratamento pode contribuir no efeito da rugosidade. (Rodrigues *et al.* ¹⁰⁸ 2013)

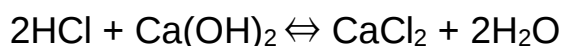
Imagens 3D da topografia do esmalte foram obtidas do perfilômetro ótico (Figura 15 e 16). Observou-se que após os tratamentos microabrasivo e DES-RE, a topografia do esmalte foi afetada pelos tratamentos. Estudos relatam que após tratamentos microabrasivos, existe uma perda de estrutura de esmalte. (Maireles *et al.* ¹⁰⁹ 2009; Silva *et al.* ¹¹⁰ 2021; Baig *et al.* ¹¹¹ 2020) O esmalte após o tratamento microabrasivo com Whiteness RM e polimento, resultou em uma perda de 33,45µm. (Rodrigues *et al.* ¹⁰⁸ 2013) Deve-se considerar que na presente pesquisa não conseguiu-se quantificar a perda do esmalte após os tratamentos. Futuros estudos calculando a perda de estrutura de esmalte com fluorose dentária devem ser realizados, trazendo mais dados e diminuindo a lacuna sobre o efeito do tratamento DES-RE no esmalte.

Devido ao uso de ácido clorídrico nos tratamentos avaliados, ocorre uma desmineralização da superfície do esmalte. O tratamento microabrasivo possui 6,6% de ácido clorídrico e o tratamento DES-RE, 21%. O processo de desmineralização e remineralização natural do esmalte ocorre como uma ação dinâmica e de períodos intercalados. Os efeitos da desmineralização podem ser revertidos se houver tempo suficiente entre os ataques ácidos, para que o organismo consiga a remineralização do esmalte (García-Godoy e Hicks ¹¹² 2008).

Quando o pH habitual desce ao pH crítico ($\leq 5,5$), ocorre a dissolução dos minerais do esmalte (García-Godoy e Hicks ¹¹² 2008). Para análise qualitativa, a espectrometria de energia dispersa de raios X foi realizada para comparar a porcentagem dos elementos fósforo (para avaliar os fosfatos), cálcio e flúor antes e após a aplicação dos tratamentos. O tratamento microabrasivo resultou numa pequena diminuição na porcentagem dos elementos químicos avaliados e o tratamento DES-RE houve um leve aumento dos elementos cálcio e fósforo, mas não

apresentam diferença significativa. Durante a desmineralização, o aumento de íons de hidrogénio (H⁺) livres provoca uma difusão destes até os cristais de hidroxiapatita e superfície do esmalte. Estes íons são forçados a serem liberados devido ao aumento de H⁺. (García-Godoy e Hicks ¹¹² 2008). O resultado da análise de energia dispersa de raios X pode ser devido a dois fatores, a quantidade de íons liberados pelo ácido clorídrico em porcentagens altos e a precipitação dos mesmos elementos nas camadas superficiais do esmalte. (García-Godoy e Hicks ¹¹² 2008) Assim mesmo, a ausência de diferença significativa após os tratamentos, concorda com o estudo de Alkattan *et al* onde mostraram que a composição química da superfície do esmalte não mudou significativamente após o processo de desmineralização e remineralização *in vitro*. (Alkattan et al. ¹¹³ 2018)

O tratamento DES-RE possui uma fase alcalina na composição do material. O fabricante menciona que essa fase alcalina neutraliza o ácido e sela os prismas do esmalte. A fase alcalina possui hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂), que tem um pH alcalino (básico) e quando este entra em contato com o ácido clorídrico (HCl) residual da fase ácida, ocorre uma reação de neutralização do ácido-base. A dissociação das moléculas de HCl e Ca(OH)₂ produzem ânions (Cl⁻ e OH⁻) e cátions (H⁺ e Ca⁺²). A junção entre os íons vai originar Cloreto de Cálcio e água, como é representada na formulação seguinte:



Essa reação é chamada de neutralização total, pois a quantidade de íons H⁺ liberados pelo ácido é igual à quantidade de íons OH⁻ liberados pela base, fazendo que o pH aumente e volte-se mais neutro (de Andrade ¹¹⁴ 2010).

A reação ácido-base do tratamento DES-RE ocorre sobre a superfície do esmalte, fazendo que outros cátions e ânions participem nesta reação. Segundo a aplicação do material (QUADRO 2), a solução ácida é colocada na superfície do esmalte, reagindo e produzindo uma desmineralização dessa superfície. Após o tempo estabelecido do fabricante, a solução ácida removida com algodão da superfície do dente, fazendo que na colocação da solução alcalina, a quantidade do hidróxido de cálcio seja maior do que o ácido clorídrico. Com isto, existe mais probabilidade que o hidróxido de cálcio possa interagir com as moléculas da superfície do esmalte. Neste

estudo *in vitro*, a superfície do esmalte foi exposta ao tratamento sem a presença da saliva e outros componentes presentes na cavidade bucal, e sabendo que o dente no meio bucal sofre os processos de desmineralização e remineralização de forma periódica por causa da alteração do pH na cavidade bucal (Hicks et al. ¹¹⁵ 2003), todas as interações possíveis que possam acontecer durante o processo não podem ser completamente explicadas.

Outra diferença entre os tratamentos avaliados no estudo é o abrasivo do tratamento microabrasivo. Em um estudo laboratorial, o Whiteness RM e diferentes microabrasivos foram estudados, destacando que o tamanho e a forma das partículas abrasivas influenciaram no desgaste do esmalte, no entanto, observou-se que o desgaste do esmalte foi cerca de 10% para todos os grupos testados, o que sugere um procedimento seguro e conservador. (Rodrigues et al. ¹⁰⁸ 2013)

Independente das formulações dos dois materiais avaliados, relatos de casos apresentaram resultados favoráveis no tratamento da fluorose dentária, tanto para o tratamento microabrasivo (de Souza et al. ¹¹⁶ 2019; Sundfeld et al. ¹¹⁷ 2007), como o tratamento DES-RE(Panday ³⁴ 2021; Bauer et al. ³⁵ 2021). Estudos clínicos controlados randomizados que verifiquem a efetividade e o resultado estético devem ser conduzidos para comparação entre os tratamentos aqui propostos.

A espectrometria RAMAN pode monitorar com sucesso a alteração do conteúdo mineral no esmalte dentário. Um estudo avaliou a precisão da técnica, validada mediante a medição de íons de cálcio e microdureza e concluiu-se que o micro-Raman pode ser usado como uma técnica confiável, precisa e quantitativa para detectar o conteúdo mineral do esmalte em tempo real.(Sa et al. ¹¹⁸ 2017) Assim mesmo, Zepeda-Zepeda *et al*, utilizou a espectroscopia Micro-Raman como ferramenta para o diagnóstico da gravidade da fluorose, mostrando ser uma técnica não invasiva e não destrutiva com aplicações promissoras no campo clínico e epidemiológico. (Zepeda-Zepeda et al. ¹¹⁹ 2021)

O íon fosfato (PO_4^{3-}) é o utilizado para avaliar os componentes minerais do esmalte.(Mohanty et al. ¹⁰³ 2013; Sa et al. ¹¹⁸ 2017) nos resultados deste estudo, tanto o tratamento microabrasão como o tratamento DES-RE apresentaram diferenças entre os picos após da aplicação dos materiais, sendo o pico 961 cm^{-1} que apresentou uma mudança maior para os dois tratamentos. Os resultados concordam com o estudo de Sa *et al* que mostra a maior variabilidade deste pico no momento de medir o conteúdo mineral. (Sa et al. ¹¹⁸ 2017)

O estudo conduzido por Zepeda-Zepeda *et al* mostrou que a intensidade do pico de 960 cm^{-1} diminuiu a medida que a gravidade da fluorose aumentou, relatando que este pico poderia ser útil na identificação de dentes com fluorose dentária. (Zepeda-Zepeda et al. ¹¹⁹ 2021) Tanto no tratamento microabrasivo como no tratamento DES-RE o pico 961 cm^{-1} aumentou após a aplicação do material na superfície do esmalte, sugerindo que os tratamentos eliminaram a superfície do esmalte com fluorose dentária. Assim mesmo, os resultados podem refletir o “*abrosion effect*” mencionado anteriormente. Com isto, podemos mencionar que os dois tratamentos atingem o mesmo objetivo, que é a eliminação de esmalte superficial com fluorose dentária.

Os resultados deste estudo apontam que o tratamento DES-RE para esmalte com fluorose dentária tem um efeito diferente ao tratamento microabrasivo na superfície, no entanto, não foi detectada influência na colonização bacteriana e no conteúdo mineral do esmalte. Futuros estudos que avaliem as propriedades óticas, o grau de perda de superfície e estudos clínicos avaliando a eficácia do material devem ser desenhados. Assim mesmo, estudos que tenham com o objetivo reproduzir o que ocorre na cavidade bucal após o tratamento DES-RE, permitirá descrever com maior profundidade o que de fato ocorre in vivo na superfície do esmalte com fluorose dentária.

7 CONCLUSÃO

Ao comparar o tratamento de desmineralização com o tratamento de microabrasão conclui-se que os tratamentos produzem efeitos diferentes na superfície do esmalte com fluorose dentária, analisando rugosidade linear, morfologia microscópica da superfície, quantidade e difusão dos elementos químicos no processo de desmineralização. Após tratamento DES-RE o esmalte apresenta um aspecto mais liso e sem perda percentual de minerais quando comparado com o tratamento MA. No entanto, a rugosidade da superfície do esmalte após os tratamentos não determinou aumento na colonização bacteriana.

REFERÊNCIAS

1. Burt BA. Fluoride--how much of a good thing? Introduction to the symposium. **J Public Health Dent**. 1995; Winter;55(1):37-8.
2. Bronckers AL, Lyaruu DM, DenBesten PK. The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis. **Journal of dental research**. 2009; Oct;88(10):877-93.
3. Martignon S, Bartlett D, Manton DJ, Martinez-Mier EA, Splieth C, Avila V. Epidemiology of Erosive Tooth Wear, Dental Fluorosis and Molar Incisor Hypomineralization in the American Continent. **Caries research**. 2021;55(1):1-11.
4. Carvalho RWFd, Valois RBV, Santos CNA, Marcellini PS, Bonjardim LR, Oliveira CCdC, et al. Study of the prevalence of dental fluorosis in Aracaju. **Cien Saude Colet**. 2010;15 Suppl 1:1875-80.
5. Thylstrup A, Fejerskov O. Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histologic changes. **Community Dent Oral Epidemiol**. 1978; Nov;6(6):315-28.
6. Dean HT. Fluorine in the control of dental caries. **Journal of the American Dental Association (1939)**. 1956; Jan;52(1):1-8.
7. Mutis MJ, Chamut S, Morón E, Peixoto CD. Status of the epidemiological surveillance systems for salt and water fluoridation programs in latin america and the caribbean. **Universitas Odontologica**. 2019;38(80):2027-3444.
8. Fawell J, Bailey K, Chilton J, Dahi E, Magara Y. **Fluoride in drinking-water**: IWA publishing: 2006.
9. Neurath C, Limeback H, Osmunson B, Connett M, Kanter V, Wells CR. Dental Fluorosis Trends in US Oral Health Surveys: 1986 to 2012. **JDR clinical and translational research**. 2019; Oct;4(4):298-308.
10. Lima IFP, Nóbrega DF, Cericato GO, Ziegelmann PK, Paranhos LR. Prevalence of dental fluorosis in regions supplied with non-fluoridated water in the Brazilian territory: a systematic review and meta-analysis. **Cien Saude Colet**. 2019; Aug 5;24(8):2909-22.
11. Sánchez Rodas E, Vanegas L, Villagrán Colón E. Estudio Epidemiológico de Caries Dental y Fluorosis, Guatemala 1999-2002. 2002.
12. Del Busto De León AL. **Concentración de fluoruro en el agua de consumo y su relación con caries y fluorosis dental en una muestra de niños y adolescentes en la colonia Villa Hermosa en Jutiapa**: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2004.

13. García Salas Girón L. **Estudio basal para la evaluación inicial de un programa de administración sistémica de fluoruro en la República de Guatemala:** Universidad de San Carlos de Guatemala; 2015.
14. Chankanka O, Levy Sm Fau - Warren JJ, Warren Jj Fau - Chalmers JM, Chalmers JM. A literature review of aesthetic perceptions of dental fluorosis and relationships with psychosocial aspects/oral health-related quality of life. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**. 2010;38(2):97-109.
15. Wei W, Pang S, Sun D. The pathogenesis of endemic fluorosis: Research progress in the last 5 years. **Journal of cellular and molecular medicine**. 2019; Apr;23(4):2333-42.
16. Khalid A, Quiñonez C. Straight, white teeth as a social prerogative. **Sociology of Health & Illness**. 2015;37(1467-9566 (Electronic)):782-96.
17. Carey CM. Tooth whitening: what we now know. **The journal of evidence-based dental practice**. 2014; Jun;14 Suppl:70-6.
18. Diaz S, Velez MP, Martinez LM, Ramos K, Bonecker M, Martins Paiva S, et al. Parental perceptions of impact of oral disorders on Colombian schoolchildren's oral healthrelated quality of life. **Acta Odontol Latinoam**. 2018; Aug;31(2):82-90.
19. Meireles SS, Goettems ML, Castro KS, Sampaio FC, Demarco FF. Dental Fluorosis Treatment Can Improve the Individuals' OHRQoL? Results from a Randomized Clinical Trial. **Brazilian dental journal**. 2018; Mar-Apr;29(2):109-16.
20. Akpata ES. Occurrence and management of dental fluorosis. **International dental journal**. 2001; Oct;51(5):325-33.
21. Di Giovanni T, Eliades T, Papageorgiou SN. Interventions for dental fluorosis: A systematic review. **J Esthet Restor Dent**. 2018;30(6):502-8.
22. Sundfeld RH, Croll TP, Briso AL, de Alexandre RS, Sundfeld Neto D. Considerations about enamel microabrasion after 18 years. **American journal of dentistry**. 2007; Apr;20(2):67-72.
23. Cordeiro RG, Torno V. Tratamentos estéticos e conservadores para a fluorose dental. **Revista da Faculdade de Odontologia de Lins**. 2012;21(2):47-51
24. McInnes J. Removing brown stain from teeth. **The Arizona dental journal**. 1966; May 15;12(4):13-5.
25. Bailey RW, Christen AG. Effects of a bleaching technic on the labial enamel of human teeth stained with endemic dental fluorosis. **Journal of dental research**. 1970; Jan-Feb;49(1):168-70.
26. Chandra S, Chawla TN. Clinical evaluation of the sandpaper disk method for removing fluorosis stains from teeth. **Journal of the American Dental Association (1939)**. 1975; Jun;90(6):1273-6.

27. Croll TP, Cavanaugh RR. Hydrochloric acid-pumice enamel surface abrasion for color modification: results after six months. **Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)**. 1986; Jun;17(6):335-41.
28. Loguercio AD, Correia LD, Zago C, Tagliari D, Neumann E, Gomes OMM, et al. Clinical effectiveness of two microabrasion materials for the removal of enamel fluorosis stains. **Oper Dent**. 2007; Nov-Dec;32(6):531-8.
29. Castro KS, Ferreira AC, Duarte RM, Sampaio FC, Meireles SS. Acceptability, efficacy and safety of two treatment protocols for dental fluorosis: a randomized clinical trial. **J Dent**. 2014; Aug;42(8):938-44.
30. Pini NI, Sundfeld-Neto D, Aguiar FH, Sundfeld RH, Martins LR, Lovadino JR, et al. Enamel microabrasion: An overview of clinical and scientific considerations. **World journal of clinical cases**. 2015; Jan 16;3(1):34-41.
31. Nevárez-Rascón M, Molina-Frechero N, Adame E, Almeida E, Soto-Barreras U, Gaona E, et al. Effectiveness of a microabrasion technique using 16% HCL with manual application on fluorotic teeth: A series of studies. **World journal of clinical cases**. 2020; Feb 26;8(4):743-56.
32. Balan B, Madanda Uthaiiah C, Narayanan S, Mookalamada Monnappa P. Microabrasion: an effective method for improvement of esthetics in dentistry. **Case reports in dentistry**. 2013;2013:951589.
33. Karakowsky Kleiman L, Fierro Velázquez A. Odontología estética mínimamente invasiva. **Revista de la Asociación Dental Mexicana**. 2019;76(1):30-7.
34. Panday D. Management of fluorosed teeth using newer material-A case series. **JIDA: Journal of Indian Dental Association**. 2021;15(12):0019-4611.
35. Bauer MLM, Bermudez JP, Aldaz MAN, Chibinski ACR, Loguercio AD, Wambier DS. CLINICAL PERFORMANCE OF A MICRO INVASIVE TREATMENT BASED ON DEMINERALIZATION-REMINERALIZATION FOR DENTAL FLUOROSIS: CASE REPORT. **Revista Científica do CRO-RJ (Rio de Janeiro Dental Journal)**. 2021;6(1):62-6.
36. Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. DENTAL ENAMEL FORMATION AND IMPLICATIONS FOR ORAL HEALTH AND DISEASE. **Physiological reviews**. 2017; Jul 1;97(3):939-93.
37. Pandya M, Diekwisch TGH. Enamel biomimetics-fiction or future of dentistry. **International journal of oral science**. 2019; Jan 5;11(1):8.
38. Van Nieuw Amerongen A, Bolscher JG, Veerman EC. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? **Caries research**. 2004; May-Jun;38(3):247-53.
39. Arola DD, Gao S, Zhang H, Masri R. The Tooth: Its Structure and Properties. **Dental clinics of North America**. 2017; Oct;61(4):651-68.
40. Moran RA, Brown EM, Bawden JW. Immunohistochemical localization of Galphaq, PLCbeta, Galphai1-2, PKA, and the endothelin B and extracellular Ca2+-sensing

receptors during early amelogenesis. **Journal of dental research**. 2000; Nov;79(11):1896-901.

41. Federation ID. A review of the developmental defects of enamel index (DDE Index). Commission on Oral Health, Research & Epidemiology. Report of an FDI Working Group. **International dental journal**. 1992; Dec;42(6):411-26.

42. Frazão P, Peverari AC, Forni TIB, Mota AG, Costa LRd. Fluorose dentária: comparação de dois estudos de prevalência. **Cadernos de saúde publica**. 2004;20:1050-8.

43. Hoffmann RHS, Sousa MdLRd, Cypriano S. Prevalência de defeitos de esmalte e sua relação com cárie dentária nas dentições decídua e permanente, Indaiatuba, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. 2007;23:435-44.

44. Jälevik B, Norén JG. Enamel hypomineralization of permanent first molars: a morphological study and survey of possible aetiological factors. **International journal of paediatric dentistry**. 2000; Dec;10(4):278-89.

45. DenBesten PK. Biological mechanisms of dental fluorosis relevant to the use of fluoride supplements. **Community Dent Oral Epidemiol**. 1999; Feb;27(1):41-7.

46. Fejerskov O, Baelum V, Manji F, Moller I. Fluorose dentária: um manual para profissionais da saúde. **São Paulo: Santos**. 1994;122.

47. Saúde Md. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais. Brasília - DF: Ministerio de Saúde; 2012.

48. Capella LF, Carcereri DL, Paiva SMd, Rosso RA, Paixão RdF, Saltori EK, et al. Ocorrência de fluorose dentária endêmica. **RGO (Porto Alegre)**. 1989:371-5.

49. Clark DC, Berkowitz J. The influence of various fluoride exposures on the prevalence of esthetic problems resulting from dental fluorosis. **J Public Health Dent**. 1997; Summer;57(3):144-9.

50. Viegas CM, Scarpelli AC, Novaes Júnior JB, Paiva SM, Pordeus IA. Fluorose dentária: abordagens terapêuticas para recuperação estética. **RGO Revista Gaúcha de Odontologia (Online)**. 2011;59(3):497-501.

51. Horowitz HS, Driscoll WS, Meyers RJ, Heifetz SB, Kingman A. A new method for assessing the prevalence of dental fluorosis--the Tooth Surface Index of Fluorosis. **Journal of the American Dental Association (1939)**. 1984; Jul;109(1):37-41.

52. Organization WH. Oral health survey: basic methods 5th ed. **Geneva, Switzerland: WHO**. 2013.

53. Abanto Alvarez J, Rezende KM, Marocho SM, Alves FB, Celiberti P, Ciamponi AL. Dental fluorosis: exposure, prevention and management. **Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal**. 2009; Feb 1;14(2):E103-7.

54. Price RB, Loney RW, Doyle MG, Moulding MB. An evaluation of a technique to remove stains from teeth using microabrasion. **Journal of the American Dental Association (1939)**. 2003; Aug;134(8):1066-71.
55. Mondelli J, Mondelli RFL, Bastos M, Franco EB. Microabrasão com ácido fosfórico. **Rev Bras Odontol**. 1995;52(3):20-2.
56. de Andrade E Silva SM, Sampaio RdC, de Oliveira QES, Miranda CB. Microabrasão do esmalte para remoção de manchas de fluorose dentária: relato de caso. **Revista Dental Press de Estética**. 2015;12(1807-2488).
57. Amaral D, Rayen R, Muthu MS. Macroabrasion in pediatric dentistry. **The Journal of clinical pediatric dentistry**. 2006; Fall;31(1):9-13.
58. Natera A, Da Silva A, Benitez I, Moreno Y. Macroabrasión y microabrasión del esmalte, ¿ Es la secuencia correcta para resolver el problema de fluorosis dental? Reporte de un caso clínico. **Revista de Operatoria Dental Y Biomateriales**. 2017;7(2).
59. Sundfeld D, Pavani CC, Pavesi Pini NI, Machado LS, Schott TC, Bertoz APM, et al. Esthetic recovery of teeth presenting fluorotic enamel stains using enamel microabrasion and home-monitored dental bleaching. **Journal of conservative dentistry : JCD**. 2019; Jul-Aug;22(4):401-5.
60. Sundfeld RH, Sundfeld-Neto D, Machado LS, Franco LM, Fagundes TC, Briso AL. Microabrasion in tooth enamel discoloration defects: three cases with long-term follow-ups. **Journal of applied oral science : revista FOB**. 2014; Jul-Aug;22(4):347-54.
61. Sundfeld RH, Franco LM, Gonçalves RS, de Alexandre RS, Machado LS, Neto DS. Accomplishing esthetics using enamel microabrasion and bleaching-a case report. **Oper Dent**. 2014; May-Jun;39(3):223-7.
62. Croll TP. Enamel microabrasion for removal of superficial dysmineralization and decalcification defects. **Journal of the American Dental Association (1939)**. 1990; Apr;120(4):411-5.
63. Bodden MK, Haywood VB. Treatment of endemic fluorosis and tetracycline staining with macroabrasion and nightguard vital bleaching: a case report. **Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)**. 2003; Feb;34(2):87-91.
64. Croll TP, Donly KJ. Enamel microabrasion for removal of decalcification, dysmineralization, and surface texture defects. **Am J Esthetic Dent**. 2013;3:92-9.
65. Higashi C, Dall'Agnol AL, Hirata R, Loguercio AD, Reis A. Association of enamel microabrasion and bleaching: a case report. **General dentistry**. 2008; May;56(3):244-9.
66. Haywood VB. Treating sensitivity during tooth whitening. **Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ : 1995)**. 2005; Sep;26(9 Suppl 3):11-20.

67. Schoppmeier CM, Derman SHM, Noack MJ, Wicht MJ. Power bleaching enhances resin infiltration masking effect of dental fluorosis. A randomized clinical trial. **J Dent.** 2018; Dec;79:77-84.
68. Alverson BW, Capehart KL, Babb CS, Romero MF. Esthetic management of white spot lesions by using minimal intervention techniques of bleaching and resin infiltration: A clinical report. **The Journal of prosthetic dentistry.** 2021; Oct;126(4):455-8.
69. Yang F, Mueller J, Kielbassa AM. Surface substance loss of subsurface bovine enamel lesions after different steps of the resinous infiltration technique: a 3D topography analysis. **Odontology.** 2012; Jul;100(2):172-80.
70. Askar H, Lausch J, Dörfer CE, Meyer-Lueckel H, Paris S. Penetration of micro-filled infiltrant resins into artificial caries lesions. **J Dent.** 2015; July 2015;43(7):832-8.
71. Meyer-Lueckel H, Chatzidakis A, Naumann M, Dörfer CE, Paris S. Influence of application time on penetration of an infiltrant into natural enamel caries. **J Dent.** 2011; Jul;39(7):465-9.
72. Zotti F, Albertini L, Tomizioli N, Capocasale G, Albanese M. Resin Infiltration in Dental Fluorosis Treatment-1-Year Follow-Up. **Medicina (Kaunas, Lithuania).** 2020; Dec 29;57(1).
73. Da Rosa Rodolpho PA, Donassollo TA, Cenci MS, Loguércio AD, Moraes RR, Bronkhorst EM, et al. 22-Year clinical evaluation of the performance of two posterior composites with different filler characteristics. **Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials.** 2011; Oct;27(10):955-63.
74. Moura FR, Romano AR, Lund RG, Piva E, Rodrigues Júnior SA, Demarco FF. Three-year clinical performance of composite restorations placed by undergraduate dental students. **Brazilian dental journal.** 2011;22(2):111-6.
75. Santa-Rosa TT, Ferreira RC, Drummond AM, De Magalhães CS, Vargas AM, Ferreira EFE. Impact of aesthetic restorative treatment on anterior teeth with fluorosis among residents of an endemic area in Brazil: intervention study. **BMC oral health.** 2014; May 13;14:52.
76. Sekundo C, Frese C. Underlying Resin Infiltration and Direct Composite Veneers for the Treatment of Severe White Color Alterations of the Enamel: Case Report and 13-Month Follow-Up. **Oper Dent.** 2020; Jan/Feb;45(1):10-8.
77. Cavalcheiro JP, Souza M, Duque CCO, Bussaneli DG, Zuanon Â CC, Jeremias F. Esthetic rehabilitation of anterior teeth with molar-incisor hypomineralization and dental fluorosis: a case report. **General dentistry.** 2020; May-Jun;68(3):34-9.
78. Mangani F, Cerutti A, Putignano A, Bollero R, Madini L. Clinical approach to anterior adhesive restorations using resin composite veneers. **The European journal of esthetic dentistry : official journal of the European Academy of Esthetic Dentistry.** 2007; Summer;2(2):188-209.
79. Demarco FF, Baldissera RA, Madruga FC, Simões RC, Lund RG, Correa MB, et al. Anterior composite restorations in clinical practice: findings from a survey with

general dental practitioners. **Journal of applied oral science : revista FOB**. 2013; Nov-Dec;21(6):497-504.

80. Hosney S, Ercoli C, Dilbone D, Carranza MG, Chochlidakis K. Esthetic and Functional Rehabilitation of an Adolescent Patient with Severe Dental Fluorosis: A Clinical Report. **Journal of prosthodontics : official journal of the American College of Prosthodontists**. 2022; Feb;31(2):96-101.

81. El Mourad AM. Aesthetic Rehabilitation of a Severe Dental Fluorosis Case with Ceramic Veneers: A Step-by-Step Guide. **Case reports in dentistry**. 2018;2018:4063165.

82. Peumans M, Van Meerbeek B, Lambrechts P, Vanherle G. Porcelain veneers: a review of the literature. **J Dent**. 2000; Mar;28(3):163-77.

83. Beier US, Kapferer I, Burtscher D, Dumfahrt H. Clinical performance of porcelain laminate veneers for up to 20 years. **The International journal of prosthodontics**. 2012; Jan-Feb;25(1):79-85.

84. Lee JD, Inoue N, Lee C, Park S, Lee SJ. Comprehensive Management of Severe Dental Fluorosis with Adhesively Bonded All-Ceramic Restorations. **Prosthesis**. 2021;3(3):194-208.

85. Lundgren GP, Vestlund GM, Dahllöf G. Crown therapy in young individuals with amelogenesis imperfecta: Long term follow-up of a randomized controlled trial. **J Dent**. 2018; Sep;76:102-8.

86. Edelhoff D, Sorensen JA. Tooth structure removal associated with various preparation designs for anterior teeth. **The Journal of prosthetic dentistry**. 2002; May;87(5):503-9.

87. Armstrong S, Breschi L, Özcan M, Pfefferkorn F, Ferrari M, Van Meerbeek B. Academy of Dental Materials guidance on in vitro testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength (μ TBS) approach. **Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials**. 2017; Feb;33(2):133-43.

88. Perdigão J. Resin infiltration of enamel white spot lesions: An ultramorphological analysis. **J Esthet Restor Dent**. 2020; Apr;32(3):317-24.

89. Nogueira RD, Silva CB, Lepri CP, Palma-Dibb RG, Geraldo-Martins VR. Evaluation of Surface Roughness and Bacterial Adhesion on Tooth Enamel Irradiated With High Intensity Lasers. **Brazilian dental journal**. 2017; Jan-Feb;28(1):24-9.

90. Bartholomew JW, Mittwer T. The Gram stain. **Bacteriological reviews**. 1952; Mar;16(1):1-29.

91. Tripathi N, Sapra A. Gram Staining. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.; 2021.

92. da Silva RC, Zuanon AC, Spolidorio DM, Campos JA. Antibacterial activity of four glass ionomer cements used in atraumatic restorative treatment. **Journal of materials science Materials in medicine**. 2007; Sep;18(9):1859-62.
93. Viana PS, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Disinfection of bovine enamel by microwave irradiation: effect on the surface microhardness and demineralization/remineralization processes. **Caries research**. 2010;44(4):349-57.
94. Arroyo E, Enríquez L, Sánchez A, Ovalle M, Olivas A. Scanning electron microscopy of bacteria *Tetrasphaera duodecadis*. **Scanning**. 2014; Sep-Oct;36(5):547-50.
95. Simmons JO, Meyers EJ, Lien W, Banfield RL, Roberts HW, Vandewalle KS. Effect of surface treatments on the mechanical properties and antimicrobial activity of desiccated glass ionomers. **Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials**. 2016; Nov;32(11):1343-51.
96. Garcia P, Cardia MFB, Francisconi RS, Dovigo LN, Spolidorio DMP, de Souza Rastelli AN, et al. Antibacterial activity of glass ionomer cement modified by zinc oxide nanoparticles. **Microscopy research and technique**. 2017; May;80(5):456-61.
97. Segura A, Donly KJ, Wefel JS, Drake D. Effect of enamel microabrasion on bacterial colonization. **American journal of dentistry**. 1997; Dec;10(6):272-4.
98. Ferreira FG, Nouer DF, Silva NP, Garbui IU, Correr-Sobrinho L, Nouer PR. Qualitative and quantitative evaluation of human dental enamel after bracket debonding: a noncontact three-dimensional optical profilometry analysis. **Clinical oral investigations**. 2014; Sep;18(7):1853-64.
99. Straioto FG, Neto AJF, Soares CJ, de Mello JDB. Avaliação da topografia de superfície do esmalte dentário humano erupcionado em função da idade. **POSMEC-SIMPÓSIO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA**. 2005;15.
100. Gurdogan EB, Ozdemir-Ozenen D, Sandalli N. Evaluation of Surface Roughness Characteristics Using Atomic Force Microscopy and Inspection of Microhardness Following Resin Infiltration with Icon(®). **J Esthet Restor Dent**. 2017; May 6;29(3):201-8.
101. Limandri S, Galván Josa V, Valentinuzzi MC, Chena ME, Castellano G. 3D scanning electron microscopy applied to surface characterization of fluorosed dental enamel. **Micron (Oxford, England : 1993)**. 2016; May;84:54-60.
102. Sauro S, Mannocci F, Piemontese M, Mongiorgi R. In situ enamel morphology evaluation after acidic soft drink consumption: protection factor of contemporary toothpaste. **International journal of dental hygiene**. 2008; Aug;6(3):188-92.
103. Mohanty B, Dadlani D, Mahoney D, Mann AB. Characterizing and identifying incipient carious lesions in dental enamel using micro-Raman spectroscopy. **Caries research**. 2013;47(1):27-33.

104. Donly KJ, O'Neill M, Croll TP. Enamel microabrasion: a microscopic evaluation of the "abrosion effect". **Quintessence international**. 1992;23(3):0033-6572.
105. Arslan S, Zorba YO, Atalay MA, Özcan S, Demirbuga S, Pala K, et al. Effect of resin infiltration on enamel surface properties and Streptococcus mutans adhesion to artificial enamel lesions. **Dental materials journal**. 2015;34(1):25-30.
106. Bayrak GD, Sandalli N, Selvi-Kuvvetli S, Topcuoglu N, Kulekci G. Effect of two different polishing systems on fluoride release, surface roughness and bacterial adhesion of newly developed restorative materials. **J Esthet Restor Dent**. 2017; Nov 12;29(6):424-34.
107. Pini NI, Lima DA, Ambrosano GM, da Silva WJ, Aguiar FH, Lovadino JR. Effects of acids used in the microabrasion technique: Microhardness and confocal microscopy analysis. **Journal of clinical and experimental dentistry**. 2015; Oct;7(4):e506-12.
108. Rodrigues MC, Mondelli RF, Oliveira GU, Franco EB, Baseggio W, Wang L. Minimal alterations on the enamel surface by micro-abrasion: in vitro roughness and wear assessments. **Journal of applied oral science : revista FOB**. 2013; Mar-Apr;21(2):112-7.
109. Meireles SS, Andre Dde A, Leida FL, Bocangel JS, Demarco FF. Surface roughness and enamel loss with two microabrasion techniques. **The journal of contemporary dental practice**. 2009; Jan 1;10(1):58-65.
110. Silva PLPd, Maciel PP, Martins LBC, Carvalho FGd, Santos RLd, Medeiros ESd, et al. Weight-loss and surface roughness of enamel after microabrasion procedure with different agents. **Revista de Odontologia da UNESP**. 2021;50.
111. Baig M, Cook R, Pratten J, Wood R. The effect of shape and size distribution of abrasive particles on the volume loss of enamel using micro-abrasion. **Wear**. 2020;448:203-12.
112. García-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. **Journal of the American Dental Association (1939)**. 2008; May;139 Suppl:25s-34s.
113. Alkattan R, Lippert F, Tang Q, Eckert GJ, Ando M. The influence of hardness and chemical composition on enamel demineralization and subsequent remineralization. **J Dent**. 2018; Aug;75:34-40.
114. de Andrade JC. Química Analítica Básica: Os conceitos ácido-base e a escala de pH. **Revista Chemkeys**. 2010; (1):1-6 %@ 2595-7430.
115. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). **The Journal of clinical pediatric dentistry**. 2003; Fall;28(1):47-52.
116. de Souza DFS, Pierote JJA, Aguiar FHB, Paulillo LAMS, Lima DANL. Resolution of a fluorosis case through the association of minimally invasive techniques:

microabrasion and tooth bleaching. **Brazilian Journal of Oral Sciences.** 2019;18:1663-7

117. Sundfeld RH, Rahal V, Croll TP, De Aalexandre RS, Briso ALF. Enamel microabrasion followed by dental bleaching for patients after orthodontic treatment. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry.** 2007;19(2):71-7

118. Sa Y, Feng X, Lei C, Yu Y, Jiang T, Wang Y. Evaluation of the effectiveness of micro-Raman spectroscopy in monitoring the mineral contents change of human enamel in vitro. **Lasers in medical science.** 2017; Jul;32(5):985-91.

119. Zepeda-Zepeda MA, Picquart M, Irigoyen-Camacho ME, Mejía-Gómez AM. Diagnosis of Dental Fluorosis Using Micro-Raman Spectroscopy Applying a Principal Component-Linear Discriminant Analysis. **International journal of environmental research and public health.** 2021; Oct 9;18(20).