FERNANDA NAHÁS PIRES CORRÊA

**EFEITO DO FLÚOR E DA CASEÍNA FOSFOPEPTÍDEA – FOSFATO DE CÁLCIO
AMORFO NA INIBIÇÃO DA EROSÃO EM DENTES DECÍDUOS E
PERMANENTES**

São Paulo

2008

Fernanda Nahás Pires Corrêa

**Efeito do flúor e da caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo na
inibição da erosão em dentes decíduos e permanentes**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da
Universidade de São Paulo, para obter o título de
Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências
Odontológicas.

Área de Concentração: Odontopediatria

Orientador: Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes

São Paulo

2008

FOLHA DE APROVAÇÃO

Corrêa FNP. Efeito do flúor e da caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo na inibição da erosão em dentes decíduos e permanentes [Tese Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

São Paulo,   /   / 2008

Banca Examinadora

1)Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3)Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4)Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha maior fonte de inspiração, meu maior exemplo de profissional, que felizmente é a minha mãe, Maria Salete Nahás Pires Corrêa.

Dizem que ser filha de gente famosa é difícil. Eu, na verdade, só tenho que agradecer a Deus por ter me dado uma família tão especial, com uma mãe que me ensinou tudo o que sou hoje.

Uma vez, ainda no segundo ano da graduação, um professor - Dr. Paulo Seradarían - chamou-me na sala de aula e pediu para que eu falasse meu nome inteiro em voz alta. Eu, não entendendo nada, falei. Depois ele me perguntou: "Você sabe de quem você é filha?" Eu disse: "Sim." E logo ele respondeu: "Se um dia você for um terço do que sua mãe é, você já será uma ótima profissional". Acho que, naquela época, eu ainda não tinha noção do que realmente a senhora representa para a odontologia. Com o passar do tempo, o convívio na faculdade e consultório, acompanhando a senhora em cursos, congressos e viagens e vendo seu amor e a sua dedicação pelos pacientes e alunos, pude reconhecer a excelente e admirável profissional que é.

Ainda tenho muuuuuuuuito que aprender com a senhora, e embora às vezes fale para a senhora dar uma diminuída no seu ritmo de trabalho, confesso que adoro vê-la trabalhar, e muitas vezes me emociono, seja observando-a dar aulas com o seu jeitinho todo especial, seja no consultório, quando percebo o imenso carinho que a senhora tem com os pacientes.

Tenho muito orgulho de dizer que sou filha da Profa. Maria Salete, e realmente me sinto abençoado por ter uma mãe e professora tão amorosa, carinhosa, dedicada, companheira, amiga..... Obrigada por tudo. Te amo muito!!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Deus**, por ter me abençoado em todos os momentos de minha vida e por me cercar de pessoas tão especiais.

Ao que tenho de mais precioso: minha família. Minha adorável mãe, mestra e ídolo **Maria Salete Nahás Pires Corrêa**, ao meu querido e amoroso pai, **Wladimir Lunardi Pires Corrêa** e aos meus amados irmãos, **Fabiana** e **José Paulo**, pelo amor, carinho, educação, amizade, incentivo, paciência, dedicação e colaboração com este trabalho. O momento que vivo agora é fascinante, e só existe porque vocês se doaram e aceitaram viver comigo o meu sonho. Fizeram de mim não apenas uma profissional, mas sobretudo um ser humano. Compartilharam comigo minhas alegrias e tristezas, incentivando-me a prosseguir. Não bastam palavras para expressar o meu sincero agradecimento. Hoje ofereço-lhes essa vitória, pois tudo o que fiz até agora foi receber. **AMO MUITO VOCÊS!!!**

À **Profa. Dra. Célia Regina Martins Delgado Rodrigues (in memorian)**. Alguém que sempre será muito especial em minha vida. Nunca vou me esquecer da sua generosidade, das suas aulas, das suas arguições, dos seus ensinamentos, do seu jeito tímido e da pessoa tão meiga, doce e humilde que foi. Pra mim, será sempre um exemplo a seguir. O tempo pode passar, mas você continua dona de um grande pedaço em meu coração. Obrigada por tudo, professora!! Gratidão e saudades eternas.

Ao **Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes**, muito mais que um orientador, um amigo e parceiro para toda hora. Um jovem pesquisador que conquistou o seu lugar pela competência, inteligência e amor à profissão. Obrigada pela concretização deste trabalho, pelos ensinamentos, pelos conselhos, pelo auxílio na análise estatística, pelo incentivo e pelo apoio de sempre. Te admiro muito e tenho certeza que você vai longe!

À **Profa Dra Marcia Turolla Wanderley**, pelo apoio, carinho, humildade, compreensão e todo cuidado que teve comigo. Sua garra, caráter e dedicação à faculdade e pacientes são admiráveis.

Ao meu queridinho **Prof. Dr. Antônio Carlos Guedes-Pinto**, pelos conhecimentos transmitidos, bons momentos, conversas e conselhos que servirão para minha caminhada. Conviver com o senhor foi um aprendizado e tanto. Obrigado por tudo! Já estou com saudades...

AGRADECIMENTOS

Ao **Departamento de Ortodontia e Odontopediatria** da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pela oportunidade e pelos conhecimentos adquiridos.

Aos Professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, **Prof. Antônio Carlos Guedes Pinto, Profa. Maria Salete Nahás Pires Corrêa, Profa. Ana Lídia Ciamponi, Prof. José Carlos Pettorossi Imparato, Prof. Marcelo José Strazzeri Bönecker, Profa. Marcia Turolla Wanderley, Profa. Cláudia Perez Trindade, Profa. Ana Stella Haddad, Prof. Fausto Medeiros Mendes, Profa. Daniela Raggio**. Vocês foram e sempre serão peças-chave em minha vida. Com cada um de vocês aprendi muito, e sempre serei eternamente grata por esta oportunidade.

A querida turma de pós-graduação em Odontopediatria 2006/2008 (**Adriana, Anna Paula, Babou, Cássio, Daniela, Gabriela, Isabela, Marcela e Mariana**) pela amizade, convivência, parcerias, aprendizado e inúmeros bons momentos de descontração e alegria. Admiro muito cada um de vocês e torço pelo seu sucesso!

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação **Adriana Tashima, Alessandra Nassif, César Felipe, Christiana Murakami, Daniela Forlim, Fabiana, Fernanda Moraes, Francisco Simões, Janaina, Jenny, Luciana Butini, Luciana Sanglard, Lucila, Marise Suga, Monique Benedetto, Paula Celiberti, Sandra Echeverria, Selma Suga, Tatiana, Tiago e Thiago Ardenghi**, pelos bons momentos que passamos e convivemos durante este período juntos.

Ao **Júlio, Fátima, Marize e Clemência** pelo carinho, convivência agradável e pela presteza com que sempre me atenderam

Ao **Prof. Dr. Leonardo Eloy Rodrigues Filho**, por permitir a utilização dos equipamentos e laboratório do Departamento de Materiais Dentários.

Aos funcionários do Departamento de Materiais Dentários: **Silvio, Antônio, Mirtes e Rosa**, pela disponibilidade, auxílio e atenção dispensados.

À **Prof. Dra. Elizabeth Oliveira**, do Laboratório de Espectrometria de Emissão e Absorção Atômica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (LEA- IQ), pela sua atenção e pela valiosa colaboração prestada no que concerne à utilização do equipamento de Espectrometria.

Ao **Douglas N. Souza**, do Centro de Pesquisas em Biologia Oral do Departamento de Materiais Dentários da FOU SP, pela ajuda e utilização do laboratório durante a fase experimental.

Ao **Prof Dr. Issac Jamil Sayeg, Prof Dr. Paulo César Fonseca Giannini**, técnicos **Rebeca, Adriano e Victor**, do Laboratório de Petrografia Sedimentar do Instituto de Geologia da USP, muito obrigado pela permissão e orientação na utilização do analisador de imagens, sempre dispostos a colaborar e ensinar.

À **Profa Marília Buzalaf e a Larissa Grizzo**, pelos ensinamentos, pela colaboração e por ter me recebido tão bem na Faculdade de Odontologia de Bauru.

À **Adriana Tashima, Fernanda Ourives, Lisiane Fachin, Ricardo Navarro, Rively Rodrigues e Wallena Albuquerque da Cunha** pela valiosa colaboração com este trabalho.

À **Christiana Murakami** pelo carinho, atenção e correção do abstract.

À bibliotecária **Vânia M. B. de Oliveira Funaro**, pelo carinho e auxílio na formatação e normalização da tese.

À **Capes**, pela bolsa concedida.

À todos aqueles que, de alguma forma, conviveram, contribuíram, estimularam e apoiaram esta conquista.

Corrêa FNP. Efeito do flúor e da caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo na inibição da erosão em dentes decíduos e permanentes [Tese Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

RESUMO

Este trabalho *in vitro* teve como objetivo avaliar o efeito da caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo (CPP- ACP) e de alguns produtos de aplicação tópica de flúor na inibição da erosão dentária do esmalte de dentes decíduos e permanentes. Trinta molares decíduos e permanentes hígidos provenientes do Banco de Dentes Humanos da FOUSP foram seccionados no sentido méso-distal e divididos aleatoriamente em 6 grupos experimentais: controle positivo, controle negativo, gel de flúor fosfato acidulado (FFA) à 1,23%, gel de fluoreto de sódio (NaF) à 2%, solução de tetrafluoreto de titânio (TiF₄) a 4% e pasta tópica de CPP- ACP. Os espécimes foram polidos e isolados, deixando exposto apenas uma janela de 3 X 4 mm. Posteriormente, os dentes foram tratados com os diferentes produtos, imersos em solução salina por 24 horas à 37 °C e submetidos ao desafio erosivo (6 ml de ácido cítrico a 1%, pH 2,3 durante 10 minutos). O teste de microdureza foi realizado antes e após o desafio erosivo com carga estática de 50 gramas aplicada por 15 segundos. As concentrações dos íons cálcio, fósforo e flúor na solução desmineralizadora ($\mu\text{g}/\text{mm}^2$) foram analisadas por meio de espectrometria de emissão atômica e potenciômetro, respectivamente. Os dados obtidos foram analisados utilizando os testes estatísticos de análise de variância complementado pelo teste de Tukey e o testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney ($p < 0,05$). Os valores da perda média de microdureza superficial obtidos após o

desafio erosivo não foram diferentes entre os tipos de dentes ($p = 0,972$), mas foram diferentes em função do grupo de tratamento ($p < 0,001$) para cada dentição. Na dentição decídua, o controle positivo apresentou perda mineral estatisticamente maior que o grupo do TiF_4 e o FFA. Na análise da perda de cálcio, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos e tipos de dente, mas quando se considerou todos os dentes de todos os grupos, a dentição decídua apresentou uma perda significativamente maior de cálcio do que a dentição permanente ($p < 0,001$). A análise da perda de fósforo mostrou que os grupos comportaram-se de forma diferentes em função do tipo de tratamento e tipo de dente ($p < 0,001$). A perda de flúor foi semelhante para todos os grupos da dentição permanente e diferente entre o controle positivo e negativo na dentição decídua ($p < 0,001$). Não houve diferença estatisticamente significativa, quando comparado a perda de flúor entre dentição decídua e permanente ($p=0,188$). Concluiu-se que o TiF_4 , o FFA e o CPP-ACP são efetivos na prevenção da erosão dental.

Palavras-Chave: erosão dental; flúor; cálcio; dente decíduo; dente permanente; prevenção

Corrêa FNP. The effect of fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate in erosion inhibition in primary and permanent teeth [Tese Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

ABSTRACT

This *in vitro* study aimed to assess the effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and some topically applied fluoride products on the inhibition of dental erosion of primary and permanent human enamel. Thirty healthy primary and permanent molars, donated by FOUSP's Human Tooth Bank, were sectioned mesio-distally and were randomly divided into 6 experimental groups: positive control, negative control, 1.23% acidulated phosphate fluoride (APF) gel, 2% sodium fluoride (NaF) gel, 4% titanium tetrafluoride (TiF₄) solution and a CPP-ACP toothpaste. The specimens were polished and isolated, leaving an exposure window of 3 X 4mm. Later, the teeth were treated with the different products and immersed in saline solution for 24 hours at 37°C. The erosive challenge was performed using 6 ml of 1% citric acid (pH 2.3) during 10 minutes. Microhardness measurements were conducted before and after the erosive challenge, under a static load of 50 grams applied for 15 seconds. The concentration of calcium, phosphorus, and fluoride ions in the demineralizing solution ($\mu\text{g}/\text{mm}^2$) was analyzed using atomic emission spectrometry and a potentiometer, respectively. The data obtained were analyzed using ANOVA and Tukey test, and Kruskal-Wallis and Mann-Whitney non-parametric tests ($p < 0.05$). Mean values of superficial microhardness loss were obtained after the erosive challenge and they were similar for primary and permanent teeth ($p=0.972$), but different for the types of treatment ($0<0.001$) for each dentition. In the primary teeth, the positive control presented a statistically greater mineral loss than

the TiF_4 and the APF groups. In the analysis of calcium loss, no statistically significant difference was observed between the groups and types of enamel. However, when considering all specimens from all groups, the primary dentition presented a significantly greater calcium loss than the permanent sample ($p < 0.001$). Analysis of phosphorus loss showed that specimens from different experimental groups behaved differently according to type of treatment and type of tooth ($p < 0.001$). Fluoride loss was similar for all permanent enamel groups but different for the positive control and the negative control groups of primary enamel ($p < 0.001$). There were no statistically significant differences when values of fluoride loss for primary and permanent teeth were compared ($p = 0.188$). In conclusion, TiF_4 , APF and CPP-ACP were effective in the prevention of dental erosion.

Key-words: dental erosion; fluoride; calcium; primary tooth; permanent tooth; prevention

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 – Terceiros molares permanentes hígidos não inclusos e segundos molares decíduos hígidos	42
Figura 4.2 – Máquina Labcut (Excet) utilizada para seccionamento dos dentes no sentido longitudinal	43
Figura 4.3 – Dentes permanente e decíduo seccionados	43
Figura 4.4 – Amostra após inclusão com face vestibular ou palatina/lingual exposta.....	44
Figura 4.5 – Amostra preparada para avaliação da microdureza do esmalte e perda de cálcio e fósforo	45
Figura 4.6 – Microdurômetro Shimadzu HMV para análise da microdureza	46
Figura 4.7 – Equipamento de Espectrometria de Emissão Atômica (Spectroflame Modula, Spectro Analytical Instruments, Kleve, Alemanha).....	51
Figura 4.8 – Preparo e aparelhos utilizados para análise do flúor	53
Figura 4.9 – Câmera e Programa de análise de imagens Leica Qwin (Leica Microsystems).....	54
Figura 5.1 – Porcentagem da perda da microdureza superficial e concentrações de cálcio, fósforo e flúor perdido em função do grupo de tratamento.	63
Figura 5.2 – Porcentagem da perda da microdureza superficial e concentrações de cálcio, fósforo e flúor perdido em função do grupo de dente.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Valores (média $\pm$ desvio – padrão) da microdureza inicial do esmalte dos dentes decíduos e permanentes para os diferentes tipos de tratamento.....	57
Tabela 5.2 – Valores (média $\pm$ desvio – padrão) da perda média de microdureza superficial (PDS %) nos dentes decíduos e permanentes para os diferentes tipos de tratamento.....	59
Tabela 5.3 – Valores de perda de cálcio (média $\pm$ desvio – padrão) em $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ para os grupos experimentais e tipos de dente.....	60
Tabela 5.4 - Valores de perda de fósforo (média $\pm$ desvio – padrão) em $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ para os grupos experimentais e tipos dentes.....	61
Tabela 5.5 - Valores de flúor (média $\pm$ desvio – padrão) em $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ para os diferentes grupos experimentais e tipos dentes.....	62

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Etiologia da erosão dental.....	19
2.2 Prevenção da erosão dental.....	26
3 PROPOSIÇÃO	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Aspectos éticos da pesquisa	37
4.2 Material.....	37
4.3 Métodos.....	41
4.3.1 Seleção, processamento e divisão da amostra.....	41
4.3.2 Preparo dos corpos de prova para o teste de microdureza e espectrometria de emissão atômica.....	44
4.3.3 Avaliação da microdureza do esmalte dos dentes decíduo e permanente previamente ao tratamento e desafio erosivo.....	45
4.3.4 Tratamento das superfícies de esmalte dos dentes decíduos e permanentes.....	46
4.3.5 Desafio erosivo.....	48
4.3.6 Avaliação da perda de cálcio e fósforo por meio de espectrometria de emissão atômica	48
4.3.7 Análise da concentração de flúor	51
4.3.8 Análise em lupa estereoscópica	54

4.3.9	Avaliação da microdureza superficial	
final.....		54
4.3.10	Análise estatística.....	55
5	RESULTADOS.....	57
6	DISCUSSÃO	64
7	CONCLUSÕES	77
	REFERÊNCIAS.....	78
	ANEXO	96

1 INTRODUÇÃO

A erosão dental é definida como a perda progressiva e irreversível do tecido dental duro decorrente de um processo químico, sem ação bacteriana. Os ácidos responsáveis pelo processo químico de destruição do esmalte dentário podem ser de origem extrínseca ou intrínseca.

O fator etiológico intrínseco da erosão dental advém do ácido gástrico que entra em contato com as superfícies dentais quando há refluxo, regurgitação ou vômito, casos estes que ocorrem freqüentemente nos quadros de distúrbios psicossomáticos, desordens gastrointestinais e em pacientes portadores de necessidades especiais. Os fatores extrínsecos são constituídos por ácidos cujas origens podem ser: consumo excessivo de alimentos e bebidas ácidas, a exposição prolongada à água da piscina incorretamente tratada, o uso crônico de medicamentos ácidos, o uso de drogas ilegais, o uso freqüente de alguns produtos de higiene oral ou a inalação de fumaças industriais corrosivas.

A eliminação do fator causal pode ser difícil, pois indivíduos susceptíveis à erosão dental podem ter envolvimento psicológico ou profissional com fatores predisponentes ao distúrbio e, portanto, não serem cooperativos mesmo quando o agente causal for identificado. Por essa razão, a busca de meios que minimizem a erosão dental tem sido um dos objetos de maior preocupação por parte dos especialistas. Dessa forma, muitos estudiosos sugerem condutas para diminuir os efeitos deletérios dos ataques ácidos à estrutura dental (AMAECHI; HIGHAM, 2005). Um exemplo disso são os fluoretos, que ainda não apresentaram um papel conclusivo na prevenção da erosão, e a possibilidade da utilização de produtos a

base de cálcio e fosfato na tentativa de aumentar a supersaturação destes elementos na saliva e biofilme.

A eficácia dos agentes químicos na prevenção de lesões erosivas ainda é objeto de controvérsias devido às suas limitações e à ausência de evidências científicas. Desta forma, a avaliação da prevenção da erosão dental por meio de agentes químicos em dentes decíduos e permanentes reveste-se de grande importância.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Etiologia da erosão dental

O desgaste fisiológico é normalmente estabelecido pela combinação entre abrasão, atrição e erosão (DEERY et al., 2000; ECCLES, 1979; GANDARA; TRUELOVE, 1999; MACIEL, 1993). Todavia, estudos recentes evidenciam que devido a mudanças no estilo de vida e ao aumento no consumo de bebidas e alimentos ácidos, a prevalência da erosão tem aumentado em várias partes do mundo (DEERY et al., 2000; OGININI; AGBAKWURU; NDUBUBA, 2005), fazendo com que a erosão seja um fator dominante no desgaste dental (VIEIRA; RUBEN; HUYSMANS, 2005).

A palavra erosão - que deriva do verbo latino *erodere*, *erosi*, *erosum* (corroer) - descreve o processo de destruição gradual da superfície de algo, usualmente por ações eletrolíticas ou químicas. O termo clínico erosão dental é utilizado para indicar o resultado físico de uma patologia crônica, irreversível e localizada no tecido dental duro, que tem a sua superfície quimicamente afetada por ácidos intrínsecos ou extrínsecos, sem o envolvimento de bactérias (ECCLES, 1982; LEVITCH et al., 1994; TEN CATE; IMFELD, 1996; WATSON; TULLOCH, 1985; ZIPKIN; McCLURE, 1949).

Os fatores etiológicos extrínsecos da erosão dental são constituídos por ácidos provenientes da dieta alimentar, medicamentos de uso crônico, drogas ilícitas, água de piscina com pH inadequado ou fumaças industriais (AMAECHI;

HIGHAM, 2005; DUGMORE; ROCK, 2004; ECCLES, 1979; GANDARA; TRUELOVE, 1999; IMFELD, 1996a; LARSEN et al., 2000; SHAW; SMITH, 1998; ZERO, 1996).

Com relação aos ácidos provenientes da dieta alimentar e em virtude da agitação que caracteriza a rotina diária atual, a maioria das pessoas tem ingerido bebidas prontas para consumo. Segundo Tahmassebi et al. (2006), mais da metade da necessidade diária de líquidos de um indivíduo, que varia de 2 a 3 litros, é suprida por bebidas gasosas. A facilidade de compra, o baixo custo e a disponibilidade desses produtos incentivam o seu consumo e, conseqüentemente, o risco de erosão dental aumenta (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999). Segundo IBGE (2004), o consumo de refrigerantes no Brasil, aumentou em 490% de 1995 a 2003. Além disso, os agentes erosivos da dieta que causam a erosão são altamente substaturados de cálcio, fosfato e flúor quando comparados a hidroxiapatita e a fluorapatita (BARBOUR et al., 2006).

Os refrigerantes, os sucos cítricos, os sucos artificiais, os isotônicos esportivos, os energéticos e até mesmo algumas bebidas alcoólicas possuem pH ácido, podendo causar erosão dental quando ingeridos com grande freqüência. O consumo elevado e freqüente de bebidas ácidas tem sido considerado como um dos principais fatores responsáveis pela crescente incidência de erosão dental, principalmente entre crianças e adolescentes, e algumas das bebidas citadas acima têm sido exaustivamente estudadas em pesquisas sobre potencial erosivo (AL-MAJED; MAGUIRE; MURRAY, 2002; AMAECHI; HIGHAM, 2005; FUSHIDA; CURY, 1999; JARVINEN; RYTOMAA; HEINONEN, 1991; JOHANSSON et al., 2004; NOGUEIRA; SOUZA; NICOLAU, 2000; WEST; HUGHES; ADDY, 2000; WONGKHANTEE et al., 2005).

Amaechi, Higham e Edgar (1999) e Meurman e Ten Cate (1996) afirmam que qualquer solução com pH inferior a 5,5 pode causar erosão, particularmente se o ataque for de longa duração e repetido ao longo do tempo.

Segundo estudos prévios, a velocidade de dissolução do esmalte depende da temperatura, como em outras reações químicas (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999; BARBOUR et al., 2006), e esse pode ser um fator que predispõe à erosão (WEST; HUGHES; ADDY, 2000). Outro fator predisponente da erosão é o modo de ingestão das bebidas (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999; BARBOUR et al., 2006; WEST; HUGHES; ADDY, 2000). De acordo com Edwards et al. (1999), o tempo de contato da bebida com a superfície dental influencia na quantidade de tecido dental perdido.

Alguns vegetais que são consumidos com frequência possuem pH ácido, como é o caso do tomate. Esse fruto também é consumido sob a forma de molhos industrializados, cuja maioria é composta por soluções ácidas como o vinagre, o aceto balsâmico e o limão. O *catchup*, a maionese, a mostarda e o pickles, também considerados ácidos, são condimentos ingeridos com frequência em alimentos do tipo *fast-food* (GANDARA; TRUELOVE, 1999). Por ter consistência dura e fibrosa, a cenoura pode agravar o desgaste devido à abrasão (LINKOSALO; MARKKANEN, 1985). Além disso, as frutas cítricas, que comumente representam grande parte da dieta de indivíduos que procuram controlar o peso, também apresentam alto potencial erosivo (GANDARA; TRUELOVE, 1999).

Medicamentos de uso crônico representam risco para o desenvolvimento de lesões erosivas em duas situações: quando possuem caráter ácido ou quando induzem a hipossalivação (AMAECHI; HIGHAM, 2005). Dentre os medicamentos de caráter ácido de uso freqüente, estão a vitamina C (ácido ascórbico), preparações

com ferro, o ácido acetil-salicílico e o ácido hidrocloreídrico (COSTA et al., 2004; McCRACKEN; O'NEAL, 2000; NUNN; SHARKEY; COULTHARD, 2001). A perda de estrutura dental por erosão é maior ainda quando esses medicamentos são utilizados sob a forma de efervescentes, mastigáveis ou via sublingual, pois o contato das substâncias com os dentes é demasiadamente prolongado em tais casos (GIUNTA, 1983).

A erosão dental é freqüentemente associada a pessoas que mantêm alto padrão de higiene bucal (AMAECHI; HIGHAM, 2005; SHAW; SMITH, 1998). Alguns produtos de higiene bucal, como enxaguatórios, e substitutos ou estimuladores de saliva são ácidos, e apresentam potencial erosivo (LUSSI; HELLWING, 2001; MEURMAN et al., 1996; PONTEFRACCT et al., 2001; RYTOMAA et al., 1989). Além disso, quando o uso de substâncias ácidas é associado à força mecânica da escovação, o desgaste e a perda de estrutura dental são agravados (AMAECHI; HIGHAM, 2005; ECCLES, 1979; MAGALHÃES et al., 2007; RIOS et al., 2006a; SHAW; SMITH, 1998).

Os usuários de algumas drogas ilícitas também possuem risco elevado para o desenvolvimento da erosão dental, como a cocaína, *ecstasy* e a metanfetamina, compostos por substâncias ácidas e que induzem a hipossalivação (BLANKSMA; BRAND, 2005; DUXBURY, 1993; KAPILA; KASHANI, 1997; KRUTCHKOFF et al., 1990; RHODUS; LITTLE, 2008).

A ocupação do paciente pode fornecer indícios de sua susceptibilidade à erosão dental. Trabalhadores que freqüentemente permanecem em contato com fumaças industriais provenientes de fábricas de baterias e fertilizante, nas quais o ácido sulfúrico e outros produtos geram fumaças ácidas (ECCLES, 1979; JOHANSSON et al., 2005; KIM; DOUGLAS, 2003; PETERSEN; GORMSEN, 1991;

TUOMINEN et al., 1991), também podem apresentar erosão dental severa nos dentes.

Outros fatores extrínsecos são os ácidos utilizados na manutenção de piscinas para eliminar bactérias e fungos (CENTERWALL et al., 1986; GEURTSEN, 2000). Quando o pH da água das piscinas não é regulado, nadadores profissionais ou mesmo amadores que freqüentam-nas constantemente, correm o risco de desenvolver lesões erosivas de maneira rápida (DAWES; BORODITSKY, 2008), às vezes até mesmo em 27 dias (GEURTSEN, 2000).

Indivíduos cuja profissão ou *hobby* envolva a degustação freqüente de vinho podem apresentar propensão ao desenvolvimento de erosão dental (CHAUDRY; HARRIS; CHALLACOMBE, 1997; CHIKTE; GROBLER; KOTZE, 2003; MANDEL, 2005; WIEGAND; ATTIN, 2007; WIKTORSSON; ZIMMERMAN; ANGMAR-MANSSON, 1997). Autores têm relatado casos de erosão dental ocasionada pelo contato freqüente dos dentes com vinhos, e tentam implementar medidas preventivas que tornem a atividade de degustação dessa bebida menos danosa (CHAUDRY; HARRIS; CHALLACOMBE, 1997). Outros profissionais que podem ter o risco de erosão dental aumentado são os pintores e aqueles que trabalham em laboratórios, pipetando substâncias ácidas (McINTYRE, 1992; SMITH; KNIGHT, 1984).

O ácido gástrico constitui o fator etiológico intrínseco da erosão dental. O contato deste ácido com as superfícies dentárias ocorre quando ele retorna à cavidade bucal por refluxos, vômitos ou regurgitações (BARR; BARR, 2005; BARRON et al., 2003; BARTLETT, 2006; ECCLES, 1979; LINNETT et al., 2002; MILOSEVIC, 1999). Dentre as causas de origem somática incluem-se o alcoolismo, a gravidez, o tratamento anti-alcoolismo, os distúrbios gastrointestinais, a disfunção

gástrica, a constipação crônica, a hérnia de hiato, a úlcera duodenal e o refluxo gastroesofágico, que também podem originar ácidos endógenos. Distúrbios alimentares de origem psicossomática, como o vômito decorrente de situações de estresse, a anorexia ou a bulimia, são freqüentemente causas das erosões dentais intrínsecas (MOSS, 1998; SCHEUTZEL, 1996; SHAW; SMITH, 1998).

O estresse da vida agitada tem aumentado o número de pacientes com desordens gastrointestinais. A gastrite, a úlcera e a doença do refluxo gastroesofágico podem tornar ácido o pH salivar ou induzir o contato do ácido gástrico com as superfícies dentais, resultando em erosão (SHAW; SMITH, 1998). Destas patologias, aquela que tem recebido maior destaque em pesquisas sobre erosão dental é a doença do refluxo gastroesofágico (OGINNI; AGBAKWURU; NDUBUBA, 2005). Essa desordem é caracterizada pela passagem involuntária de conteúdo gástrico para dentro do esôfago e da cavidade oral (BARRON et al., 2003; LINNETT et al., 2002).

Ocasionalmente, pode ocorrer refluxo gastroesofágico assintomático ou silencioso, ou seja, o paciente não apresenta nenhum dos sinais da doença, como queimação no peito, dores peitorais de origem não cardíaca, tosse crônica, rouquidão freqüente, gosto ácido na boca e laringite crônica. Nestes casos é comum a erosão dental acometer dentes posteriores, sendo este um dos primeiros sinais a se manifestar (ALI et al., 2002). De acordo com Amaechi e Higham (2005), a regurgitação passiva seria a causa da erosão dental de caráter idiopático.

Dentre os distúrbios alimentares psicossomáticos, a anorexia nervosa e a bulimia são aqueles que mais têm sido associados à erosão dental, razão pela qual também têm sido objeto de maior número de estudos (MILOSEVIC, 1999; PASZYNSKA et al., 2006; ROBERTS; TYLEND, 1989; TRAEBERT; MOREIRA,

2001). Os meios de comunicação e os produtores de roupas e acessórios praticamente impõem à sociedade conceitos de beleza. Assim, na atualidade, o conceito de beleza feminina guarda estreita relação com a magreza, o que faz com que as mulheres adotem hábitos e condutas para controlar o peso corporal, muitas vezes deletérios à saúde. Em função dessa pressão, a prevalência de anorexia nervosa e de bulimia tem aumentado significativamente nos últimos anos, principalmente entre adolescentes do sexo feminino (TRAEBERT; MOREIRA, 2001). Na maioria das vezes, os pacientes vitimados por tais distúrbios não se consideram doentes, e procuram o cirurgião-dentista para resolver possíveis problemas estéticos (MILOSEVIC, 1999). Dessa forma, o cirurgião-dentista pode ser o primeiro profissional da área da saúde a diagnosticar tais distúrbios alimentares devido à presença de seus sintomas, dentre os quais se inclui a erosão dental.

Recentemente, Corrêa (2006) verificou a prevalência da erosão dental e sua associação com fatores extrínsecos e intrínsecos em 232 pacientes - faixa etária de 2 a 20 anos de idade - de uma clínica odontológica particular de São Paulo. Os resultados mostraram prevalência de 25%, com maior acometimento (76%) da face oclusal. As variáveis que mostraram associação com a erosão dental foram: alta frequência de ingestão de refrigerantes e de balas, e problemas gástricos. De acordo com a autora, a prevalência da erosão dental na amostra estudada foi alta, e esteve associada tanto a fatores etiológicos extrínsecos quanto a fatores etiológicos intrínsecos.

2.2 Prevenção da erosão dental

A prevenção da erosão dental deve receber, por parte dos cirurgiões-dentistas, o mesmo cuidado e minúcia dedicados à prevenção da doença cárie. Assim, cumpre a esses profissionais informarem os seus pacientes sobre os fatores etiológicos e predisponentes a essa desordem, aconselhando-os da melhor maneira possível sobre as condutas a serem adotadas para prevenir ou minimizar os problemas e motivando-os para obter a necessária cooperação. No entanto, existem poucos conceitos conclusivos a respeito da prevenção e progressão desta alteração dentária (IMFELD, 1996b).

Independentemente da etiologia, os elementos fundamentais na prevenção da erosão dental são a diminuição da frequência e da severidade do ácido. No entanto, pela sua etiologia multifatorial, muitas vezes torna-se difícil esta remoção. Além disso, a eliminação do fator causal pode ser difícil, pois indivíduos susceptíveis à erosão dental podem ter envolvimento psicológico ou profissional com fatores predisponentes ao distúrbio e, portanto, não serão cooperativos mesmo quando o agente causal for identificado (AMAECHI; HIGHAM, 2005). Por essa razão, a busca de meios que minimizem a erosão dental tem sido um dos objetos de maior preocupação por parte dos especialistas. Assim é que muitos estudiosos sugerem condutas para diminuir os efeitos deletérios dos ataques ácidos à estrutura dental.

O gerenciamento de lesões de erosão envolve três fases: 1) Imediata; 2) Intermediária; 3) De longo prazo. A fase imediata inclui o diagnóstico precoce da lesão erosiva, o registro do estado e do grau de severidade das lesões, e a implementação de estratégias preventivas visando reduzir a exposição a ácidos e

aumentar a resistência da estrutura dental. As fases intermediária e de longo prazo envolvem a realização de restaurações provisórias, o monitoramento contínuo da progressão das lesões erosivas, a troca por restaurações definitivas e a modificação e motivação de atitudes preventivas (KILPATRICK; MAHONEY, 2004).

Para reduzir o contato com os dentes e aumentar a velocidade de remoção do agente erosivo da cavidade bucal, as bebidas ácidas devem ser ingeridas com um canudo e engolidas rapidamente (JOHANSSON et al., 2004; MILLWARD et al., 1997; SMITH; SHAW, 1993). Devem ser evitados a sorção lenta, a manutenção na boca e os bochechos com tais líquidos. O consumo de bebidas ácidas geladas também diminui o efeito erosivo (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999; WEST; HUGHES; ADDY, 2000).

Indivíduos sujeitos a vômitos recorrentes ou regurgitação, ou que consomem alimentos ácidos, devem evitar a escovação logo após o ocorrido, pois os ácidos endógenos amolecem as superfícies dos dentes, tornando-os mais susceptíveis aos efeitos da abrasão mecânica (DAVIS; WINTER, 1980; RIOS et al., 2006a). Por essa razão, alguns autores sugerem que a escovação seja postergada por no mínimo 60 minutos, para permitir a remineralização pela ação da saliva (ATTIN et al., 2001; RIOS et al., 2006b).

A estimulação salivar após o consumo de bebidas ácidas, por meio do uso de gomas de mascar, também tem mostrado um papel protetor em relação à erosão dental. Rios et al. (2006b) demonstraram que o uso de chicletes foi capaz de minimizar o desenvolvimento da erosão seguido de abrasão, tanto no esmalte humano quanto no bovino em um estudo *in situ*.

O uso de protetores bucais, quando bem ajustados, pode ser uma boa alternativa para momentos de alto risco, como: durante o sono para pessoas com

refluxo gastroesofágico; durante o treino, para nadadores; na ocorrência de vômito voluntário, para indivíduos bulímicos e anoréxicos; durante o trabalho, para aqueles que atuam em fábricas de pilhas e fertilizantes. Uma solução alcalina - leite de magnésia ou flúor gel neutro - deve ser colocada no protetor bucal para neutralizar quaisquer ácidos que entrem nesse aparelho, e para aumentar a remineralização (KLEIER; ARAGON; AVERBACH, 1984). Em pacientes com refluxo gastroesofágico, preconiza-se também o uso de bochechos com soluções a base de bicarbonato para elevar o pH da saliva (BARTLETT, 2006).

Outra medida relevante para a prevenção da erosão dental seria a inclusão de informações sobre o potencial erosivo dental no rótulo de produtos ácidos que são utilizados de maneira freqüente e prolongada. Em longo prazo, isso estimularia o desenvolvimento de pesquisas para a redução do potencial erosivo dos produtos de composição ácida disponíveis no mercado, com a adição de compostos ou misturas de sais de cálcio e fosfato para a redução da carbonatação, como já acontece no Reino Unido (HUGHES et al., 2002).

Já foi demonstrado que o aumento da concentração de flúor (SHABAT et al., 1975) e a associação do flúor com o xilitol (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1998) na bebida podem diminuir o potencial erosivo dos ácidos. No entanto, as concentrações necessárias são muito altas e o custo-benefício desta incorporação é muito pequeno, pois possibilita o desenvolvimento da fluorose, devido à intoxicação crônica pelo flúor ingerido durante a formação dos dentes (LARSEN; RICHARDS, 2002). Além disso, Grenby (1996) relata que a adição e a manipulação de ácidos nos produtos industrializados podem acarretar em mudança no sabor ou redução na validade do produto.

Outros agentes modificadores utilizados para minimizar o potencial erosivo da estrutura dental são o cálcio e o fosfato. Constatou-se que as soluções ácidas tornam-se menos erosivas quando adicionadas de maior concentração desses dois componentes (ATTIN et al., 2005; BEIRAGHI et al., 1989; HUGHES et al., 1999; LARSEN; NYVAD, 1999; WEST et al., 1999).

Inúmeros autores recomendam o uso do flúor como agente remineralizador para prevenir a erosão dental (AMAECHI; HIGHAM, 2005; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1998; BARTLETT; SMITH; WILSON, 1994; DA CUNHA, 2008; GANSS et al., 2001; GANSS et al., 2004; GRAUBART; GEDALIA; PISANTI, 1972; HOVE et al., 2006; HOVE; YOUNG; TVEIT, 2007; HOVE et al., 2008; HUGHES; WEST; ADDY, 2004; IMFELD, 1996b; JONES et al., 2002; LAGERWEIJ et al., 2006; SAUNDERS; MCINTYRE, 2005; SCHULUETER et al., 2007; SORVARI et al., 1994; TEZEL; ERGUCU; ONAL, 2002; VAN RIJKOM et al., 2003; VIEIRA; RUBEN; HUYSMANS, 2005; VIEIRA et al., 2007; WIEGAND et al., 2008). Entretanto, a eficácia do flúor na prevenção de lesões erosivas ainda é objeto de controvérsias devido às suas limitações e à ausência de evidências científicas (AMAECHI; HIGHAM, 2005; DA CUNHA, 2008; LARSEN, 2001; LARSEN; RICHARDS, 2002; MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008; MEURMAN; TEM CATE, 1996).

Quando o flúor é aplicado topicamente sobre os dentes, depósitos na forma de fluoreto de cálcio se formam na superfície dentária (LARSEN, 2001; SORVARI et al., 1994), e sob condições de pH neutro podem permanecer por semanas e até meses (GANSS et al., 2001), constituindo um mecanismo na prevenção da cárie dentária. No entanto, pouco se sabe sobre a estabilidade do fluoreto de cálcio frente à erosão dental (GANSS et al., 2001), pois o desafio presente no desenvolvimento

de lesões erosivas é muito mais forte que no processo cariioso (GANSS et al., 2001; LARSEN, 2001).

Sabe-se que, na cárie dental, o mecanismo de ação tópica do flúor se dá pela formação, na superfície do esmalte, de fluoreto de cálcio que serve como reservatório de flúor e cálcio, mantendo o meio saturado em relação a esses minerais. Em condições nas quais há diminuição do pH (abaixo de 5,5), com a presença de flúor na fase líquida, apesar da hidroxiapatita ser subsaturada em relação aos íons ao redor do dente, e portanto, ocorrer perda de cálcio e fósforo do dente para o meio, a fluorapatita permanece supersaturada, cedendo, ao mesmo tempo, íons cálcio, fósforo e flúor para o dente. Dessa forma, na presença do flúor, o grau de desmineralização é diminuído (THYSTRUP; FEJERSKOV, 2001). Autores ressaltam que muitas bebidas e alimentos têm composição e pH que os tornam subsaturados em relação a ambas hidroxiapatita e fluorapatita, conseqüentemente, até mesmo as camadas mais externas do esmalte, composta principalmente por hidroxiapatita fluoretada são dissolvidas. Portanto, o efeito protetor do flúor é menos importante na proteção contra a erosão do que na prevenção da doença cárie (LARSEN; RICHARDS, 2002; THYSTRUP; FEJERSKOV, 2001).

Como a ação do flúor ocorre de forma combinada com outros íons da hidroxiapatita (cálcio e fosfato), e em concentrações saturantes em relação a fluorapatita, não parece provável que o flúor sozinho tenha a capacidade de suprimir a erosão (LARSEN; VON DER FEHR; BIRKELAND, 1976).

O mecanismo de ação do flúor na erosão dental não está completamente esclarecido. Por ser fracamente ligado, o fluoreto de cálcio formado durante a erosão - que ocorre em baixo pH - provavelmente não é capaz de atuar na remineralização, ou na inibição da perda mineral. De acordo com Larsen (2001), Larsen e Richards

(2002), uma solução ácida que é ingerida e entra em contato com os dentes, dissolve prontamente o fluoreto de cálcio e remove traços do tratamento tópico com flúor, tornando assim improvável e limitada a ação deste agente na prevenção da erosão. Em contrapartida, Ganss et al. (2001), Ganss et al. (2004) e Lagerweij et al. (2006) relatam que a camada de fluoreto de cálcio fornece minerais adicionais para serem dissolvidos durante o ataque ácido promovendo assim um efeito inibidor da erosão. A remineralização do tecido erodido confere maior resistência ao ataque ácido subsequente às superfícies dentais afetadas (ATTIN; ZIRKEL; HELLWIG, 1998; GANSS et al., 2001), e aplicações de flúor em altas concentrações aumentam a resistência à abrasão e diminuem o desenvolvimento de erosão no esmalte e na dentina (WIEGAND; ATTIN, 2003). Quanto mais concentrado for o produto em relação ao flúor, mais fluoreto de cálcio pode ser formado no esmalte (MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008).

Devido a controvérsias e falta de evidência científica, novos estudos são necessários para determinar se a aplicação tópica profissional de flúor é ou não uma medida eficaz para prevenir a progressão das lesões decorrentes da erosão dental (AMAECHI; HIGHAM, 2005).

Em busca de outros meios que previnam a doença cárie e a erosão dental, outros agentes como o cálcio e fosfato vêm sendo estudados na tentativa de aumentar a supersaturação destes elementos na saliva e/ou biofilme.

A utilização do cálcio e fosfato faz parte, juntamente com o flúor, do processo de equilíbrio mineral. Estes íons interagem diretamente com o aumento da incorporação de flúor no interior da lesão de cárie durante a remineralização, reduzindo a solubilidade do esmalte, aumentando a capacidade tampão e reduzindo a quantidade de biofilme e modificando o metabolismo do biofilme através da

elevação das concentrações de cálcio e fosfato, potencializando então a remineralização (CURY et al., 2005).

Produtos lácteos, como leite e queijo, são conhecidos como alimentos protetores contra a desmineralização dental em seres humanos e animais, devido ao componente de proteína da caseína (GRENBY et al., 2001; GUGGENHEIM et al., 1999; SCHUPBACH et al., 1996).

A caseína foi identificada como uma das frações do leite bovino que apresenta efeito remineralizador do esmalte, o que torna a estrutura mineral do dente mais resistente e menos solúvel ao ataque ácido (IIJIMA et al., 2004). Os efeitos da remineralização pelo leite de vaca e pela saliva após a erosão do esmalte humano por Coca-Cola® foram evidentes, e a saliva apresentou menor grau de remineralização do que o leite (GEDALIA et al., 1991) e do que o queijo (LEWINSTEIN; OFEK; GEDALIA et al., 1993). Embora essa associação mereça destaque, a ingestão desse tipo de alimento após o consumo de bebidas ácidas não é comum, e há registros de que o consumo de leite por crianças de melhores condições sócio-econômicas diminuiu, enquanto a ingestão de refrigerantes e de sucos aumentou (TAHMASSEBI et al., 2006).

Esse efeito ocorre, pois enzimas presentes na cavidade bucal produzem peptídeos a partir da proteína do leite, formando os fosfopeptídeos de caseína (CPP) que estabilizam o cálcio e o fosfato mantendo-os numa forma amorfa ou solúvel conhecida como ACP, fornecendo um reservatório de íons durante um ataque cariogênico (REYNOLDS et al., 2003; SHEN et al., 2001). Além disso, é citado que os nanoaglomerados de fosfopeptídeo de caseína-fosfato de cálcio amorfo (CPP-ACP) têm demonstrado a capacidade de se direcionar à estrutura dentária e prevenir lesões de cárie em estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo*, levando à formação de

pequenos “*clusters*” de CPP-ACP que retardam a progressão da lesão de cárie e remineralizam lesões subsuperficiais de esmalte (KUMAR; ITTAHGARUN; KING, 2008; REYNOLDS et al., 2008).

O mecanismo anti-cariogênico proposto para o CPP-ACP é a localização (acúmulo) de ACP sobre a superfície dentária que tampona as atividades dos íons livres de cálcio e fosfato, portanto auxiliando a manter um estado de supersaturação em relação ao esmalte, diminuindo a desmineralização e aumentando a remineralização (YAMAGUCHI et al., 2006; YAMAGUCHI et al., 2007), resultando em um esmalte mais resistente a ataques ácidos (ITTHAGARUN et al., 2005).

Recentemente foi lançado um produto de uso profissional que contém em sua composição o CPP- ACP. Segundo o fabricante, o MI Paste® (GC Corporation, Tóquio, Japão) é uma pasta tópica baseada em água, contendo Recaldent™ CPP-ACP, caseína derivada do leite. É uma combinação única de agente de polimento, limpeza e selante do túbulo dentinário desenvolvido para aplicação profissional durante os procedimentos padrões da prática de higiene dentária. Quando o CPP-ACP é aplicado no ambiente oral, ele se liga ao biofilme, bactérias, hidroxiapatita e tecido mole liberando o fosfato e cálcio biodisponíveis.

Apenas três estudos existentes na literatura relatam a ação da caseína em um creme dental frente à erosão dental. Entretanto, ainda nenhum estudo foi realizado com a aplicação tópica profissional deste produto.

Lennon et al. (2006) compararam a ação da caseína, sua associação com o flúor e o flúor isoladamente em esmalte de dentes bovinos por meio de perfilometria. Os dentes foram mantidos em solução salina, submetidos a desafio com ácido cítrico a 1% (pH 2,3) por 30 segundos, 6 vezes ao dia durante 14 dias. Os dentes foram divididos em cinco grupos, conforme o tratamento realizado: Grupo 1

(nenhum tratamento), Grupo 2 (pasta de caseína aplicada por 120 segundos, 2 vezes ao dia), Grupo 3 (fluoreto de sódio – NaF - a 250 ppm aplicado por 120 segundos, 2 vezes ao dia), Grupo 4 (pasta de caseína aplicada por 120 segundos, 2 vezes ao dia seguido de NaF a 250 ppm aplicado por 120 segundos, 2 vezes ao dia) e Grupo 5 (fluoreto de amina – AmF - gel com 12.550 ppm aplicado por 120 segundos, 2 vezes ao dia). Verificou-se que o grupo AmF com alta concentração de flúor foi o mais efetivo na proteção da erosão dental, e que a adição da caseína no creme dental e sua associação ao flúor promoveram relativa proteção ao esmalte.

Rees, Loyn e Chadwick, (2007) avaliaram se uma única aplicação da pasta Proesmalte e Tooth Mousse^{TM} preveniria a erosão dental. Para tanto, amostras de esmalte de dentes permanentes foram tratadas com as diferentes pastas por 15 minutos e o grupo controle permaneceu em água destilada. Todos os espécimes foram expostos ao desafio ácido com 0,2% de ácido cítrico por uma hora e a perda mineral foi avaliada por meio de perfilometria. A quantidade de perda mineral no grupo controle, grupo Proesmalte e Tooth mousse foram respectivamente de 5,02, 2,60 e 3,28µm. Os resultados do grupo Proesmalte ($p < 0,01$) e Tooth mousse^{TM} diferiram estatisticamente do grupo controle, não apresentando diferença entre os tratamentos.

Piekarz et al. (2008) realizaram um estudo para avaliar a efetividade da pasta Tooth mousse^{TM} na redução da erosão dental do esmalte coronário e dentina radicular submetidos ao desafio ácido com vinho branco (pH = 3,5). Os espécimes foram submetidos a 1500 ciclos com exposição de um minuto no vinho, sendo que a pasta foi aplicada a cada 20 ciclos em um dos grupos experimentais. A perda mineral foi significativamente menor no grupo da pasta, tanto para o esmalte como para a dentina.

Até então, apenas seis trabalhos foram publicados sobre as diferenças que podem existir entre dentes decíduos e permanentes no que se refere à erosão dental. Os dados destas citações são contraditórios, sendo que, três demonstram diferenças entre as dentições (AMAECHI; HIGHAM, EDGAR, 1999; HUNTER et al., 2000a; JOHANSSON et al., 2001), enquanto outros três não demonstram (HUNTER et al., 2000b; LIPPERT et al., 2004; LUSSI et al., 2000).

No estudo *in vitro* de Amaechi, Higham e Edgar (1999), a erosão progrediu 1,5 vezes mais rapidamente no esmalte decíduo do que no permanente. No trabalho *in vitro* de Hunter et al. (2000a), foi verificado uma perda maior de estrutura da dentição decídua, mas sem diferença significativa, e no estudo *in situ* de Hunter et al. (2000b), a diferença só foi estatisticamente significante após um período prolongado (10 a 15 dias) e com alta frequência de ingestão de bebida ácida.

Assim, considerando a importância do tema e a escassez de trabalhos sobre o assunto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito de agentes químicos na prevenção da erosão dental de dentes decíduos e permanentes.

3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho *in vitro* teve como objetivo avaliar o efeito da caseína fosfopeptídea - fosfato de cálcio amorfo (CPP- ACP) e de alguns produtos de aplicação tópica de flúor na inibição da erosão dental do esmalte em dentes decíduos e permanentes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos da pesquisa

Antes de dar início à execução do experimento, o protocolo de pesquisa do presente estudo foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP) e por ele aprovado, conforme Parecer 105/06 (Anexo A).

4.2 Material

Foram utilizados, no presente trabalho, os seguintes materiais e equipamentos:

A. Equipamentos pertencentes ao Centro de Pesquisas em Biologia Oral do Departamento de Materiais Dentários da FOUSP:

- Medidor de pH (E520 Metrohm Herisau);
- Agitador magnético (Amicon);
- Balança analítica (Adventure Ohaus)
- Microdurômetro Shimadzu HMV

B. Equipamentos pertencentes ao Laboratório de Petrografia Sedimentar do Instituto de Geologia da USP:

- Lupa estereoscópica (ZEISS 475200/ 9001);
- Microscópio óptico Zeiss acoplado a uma câmera Sony, programa de análise de imagens Leica Qwin (Leica Microsystems).

C. Equipamentos pertencentes ao Laboratório de Pesquisas da Disciplina de Odontopediatria da FOUSP:

- Destilador de água Tipo Pilsen (modelo Q341-12, Quimis);
- Pipeta automática Pipetman P5000 (1-5ml, 5-10ml, Gilson).
- Labcut 1010 (Extex Corp.- EUA)
- Disco diamantado (DFS, Alemanha)
- Politriz rotativa (Buehler)
- Ultra-som (Thoron)
- Estufa (Olidef CZ Ind. Com. Ltda)

D. Equipamento pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Emissão e Absorção Atômica do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (LEA- IQ):

- Equipamento de Espectrometria de Emissão Atômica com plasma induzido por argônio (Spectroflame, Spectro Analytical Instruments, Kleve, Alemanha).

E. Equipamentos pertencentes ao Laboratório do Departamento de Bioquímica da FOB-USP:

- Mesa agitadora (Nova Técnica, modelo NT 145)
- Eletrodo (Orion, modelo 9409 – Orion Research Inc., USA)
- Micro-eletrodo de referência calomelano (Accumet, número de catálogo #13-620-79)
- Potenciômetro (Orion EA 940)

F. Materiais utilizados:

- Água deionizada
- Cera pegajosa (Horus Dentsply);
- Segundos molares decíduos e terceiros molares permanentes hígidos não inclusos;
- Lupa estereoscópica com aumento de 10X (Nikon, Inc. Instrument Group, NY, USA);
- Pedra pomes (SS White, RJ, Brasil)
- Escova tipo Robson (KG Sorensen);
- Filme laboratorial (Parafilm “M”, Sigma);
- Lâmina de Bisturi nº 12 (BD);
- Régua plástica flexível transparente (Trident);
- Seringa de insulina (Injex)
- Gaze (Cremer)

- Solução salina: 0,3mg de cloreto de cálcio (CaCl_2) ; 0,004mg cloreto de magnésio (MgCl_2); 0,2 mg de cloreto de potássio (KCl); 0,2 mg de tiocianato de potássio (KSCN); 0,5 mg de hidrogenocarbonato de sódio (NaHCO_3); 0,3 mg de monohidrogeno fosfato de sódio (Na_2HPO_4); 0,5 mg de uréia; 0,0008 mg de monossulfeto de sódio (Na_2S); 0,0008 mg de pirofosfato de sódio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) e 0,2 mg de cloreto de sódio (NaCl), em 500ml de água, pH 7,0, (OSINAGA et al., 2003)
- Solução desmineralizadora (ácido cítrico a 1 %, pH 2,3)
- Verniz ácido resistente (esmalte de unha cor vermelha) (Colorama);
- Resina ortoftálica (Resigel - Redefibra),
- Lixas de granulação 600, 1000, 1200, 2000 e 4000 (Norton)
- Pasta diamantada de $1\mu\text{m}$ e $\frac{1}{4}\mu\text{m}$ (Arotec)
- Frascos plásticos com tampa
- Gel de Flúor fosfato acidulado (FFA) a 1,23% (DFL Indústria e Comércio Ltda.)
- Gel de Fluoreto de Sódio (NaF) a 2 %, pH neutro (DFL Indústria e Comércio Ltda.)
- Solução de Tetrafluoreto de titânio (TiF_4) a 4 % (titânio (IV), flúor (Aldrich Chemical Co., USA) em água destilada
- Pasta tópica de caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo (CPP-APP) - MI Paste®
- HMDS (hexametildisiloxano - Aldrich, 2,0 mL em ácido sulfúrico 3 M)
- Placas de Petri plásticas (Falcon, no 1007)
- Hidróxido de sódio (NaOH)
- Vaselina sólida

- ácido acético 0,2M

4.3 Métodos

O trabalho foi desenvolvido em quatro etapas:

- mensuração do valor de microdureza inicial do esmalte dos dentes decíduos e permanentes hígidos
- mensuração da quantidade de cálcio e fósforo perdida por meio de espectrometria de emissão atômica
- mensuração da quantidade de flúor perdido
- mensuração final da microdureza do esmalte após desafio erosivo.

4.3.1 seleção, processamento e divisão da amostra

Para este estudo foram utilizados trinta dentes decíduos e trinta dentes permanentes provenientes do Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Os dentes selecionados foram: segundos molares decíduos e terceiros molares permanentes hígidos não inclusos (Figura 4.1).

Figura 4.1 - Terceiros molares permanentes hígidos não inclusos e segundos molares decíduos hígidos

Os dentes foram minuciosamente examinados com auxílio de lupa estereoscópica com aumento de 10X (Nikon, Inc. Instrument Group, NY, EUA) com intuito de verificar eventuais defeitos de formação, trincas, manchas ou lesões de cárie. Os que apresentaram qualquer tipo de defeito foram excluídos.

Os dentes foram lavados com água destilada e foi realizada a profilaxia dos dentes com uma mistura de pedra pomes (SS White, RJ, Brasil) e água, com escova de Robinson (KG, Sorensen, SP, Brasil) em baixa rotação.

Posteriormente, os dentes foram lavados de forma abundante em água destilada e armazenados em solução salina (0,3mg CaCl_2 ; 0,004mg MgCl_2 ; 0,2 mg KCl; 0,2 mg KSCN; 0,5 mg NaHCO_3 ; 0,3 mg Na_2HPO_4 ; 0,5 mg uréia; 0,0008 mg Na_2S ; 0,0008 mg $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ e 0,2 mg NaCl, em 500ml de H_2O , pH 7,0 - OSINAGA et al., 2003) até o momento do estudo.

Os dentes foram seccionados longitudinalmente - sob refrigeração - no sentido méso-distal, em uma máquina de corte de precisão (Labcut 1010 - Extec Corp.- EUA) (Figura 4.2), no centro do dente, até a obtenção de duas secções (face vestibular e lingual/palatina) (Figura 4.3).

Figura 4.2 - Máquina Labcut (Extec) utilizada para seccionamento dos dentes no sentido longitudinal

Figura 4.3 – Dente permanente e decíduo seccionados

Estes espécimes foram divididos aleatoriamente em 6 grupos experimentais, com 10 espécimes de dentes decíduos e 10 de dentes permanentes em cada grupo.

Os grupos foram:

GRUPOS EXPERIMENTAIS	MÉTODOS DE PREVENÇÃO
GRUPO 1 (G1)	Nenhum tipo de tratamento
GRUPO 2 (G2)	Nenhum desafio erosivo realizado. Os dentes serão imersos em solução salina
GRUPO 3 (G3)	Gel de Flúor fosfato acidulado a 1,23 % (FFA)
GRUPO 4 (G4)	Gel de Fluoreto de Sódio a 2 %, pH neutro (NaF)
GRUPO 5 (G5)	Solução de Tetrafluoreto de titânio a 4 % (TiF ₄)
GRUPO 6 (G6)	Pasta tópica de caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo (CPP- ACP)

Quadro 4.1- Divisão dos grupos experimentais, segundo o método de prevenção

Posteriormente, os espécimes foram incluídos em resina ortoftálica (Resigel - Redefibra), de modo que a área a ser analisada permanecesse exposta (Figura 4.4).

Figura 4.4 – Amostra após inclusão com face vestibular ou palatina/lingual exposta

4.3.2 preparo dos corpos de prova para o teste de microdureza e espectrometria de emissão atômica

Após a inclusão das amostras, foi realizado o tratamento da superfície de esmalte que foi a área avaliada quanto à microdureza. O polimento foi realizado em politriz rotativa (Buehler), com lixas de granulação 600, 1000, 1200, 2000 e 4000, e polimento final com disco de feltro e pasta diamantada de $1\mu\text{m}$ e $\frac{1}{4}\mu\text{m}$ (Arotec). A lixa 600 foi utilizada por um período de 30 segundos, e as restantes por 60 segundos, sob refrigeração, verificando-se o polimento obtido antes de passar para a lixa mais fina. Esse preparo foi considerado ideal quando, ao microscópio óptico, os espécimes apresentarem-se brilhantes e sem a presença de ranhuras. Ao final da

etapa de polimento, os corpos de prova foram colocados no ultra-som (Thoron) durante 12 minutos, para a remoção de eventuais resíduos.

Posteriormente, um retângulo de filme laboratorial (parafilm) de 3 mm de largura por 4 mm de comprimento foi cortado e colocado sobre os espécimes embutidos, e a seguir foram isolados com duas camadas de esmalte cosmético, ácido-resistente (Colorama Maybelline – Ultra duração, Cosbra Cosméticos Ltda, São Paulo, Brasil). Após secagem do esmalte, os retângulos de filme laboratorial foram removidos, de modo a deixar uma janela de 3 X 4 mm, a qual ficou sem cobertura e foi exposta ao tratamento (Figura 4.5).

Figura 4.5 – Amostra preparada para avaliação da microdureza do esmalte e perda de cálcio e fósforo

4.3.3 avaliação da microdureza do esmalte dos dentes decíduo e permanente previamente ao tratamento e desafio erosivo

O teste de microdureza foi realizado com um microdurômetro Shimadzu HVM II (Figura 4.6), do Departamento de Materiais Dentários da FOUSP, com penetrador tipo Knoop, e carga estática de 50 gramas aplicada por 15 segundos (LUSSI et al., 2000). Em cada espécime foram realizadas 5 indentações, sendo a primeira a 100 μ m do centro da janela, e as demais na mesma linha a 100 μ m das anteriores. Para medir as indentações, foi realizada duas marcas pontilhadas nos vértices agudos do losango correspondente à indentação, determinando o comprimento da maior diagonal.

Figura 4.6- Microdurômetro Shimadzu HVM para análise da microdureza

Finalizada esta etapa, foi realizada a média entre os grupos de dentes e análise estatística (ANOVA) para verificar se havia diferença entre eles.

4.3.4 tratamento das superfícies de esmalte dos dentes decíduos e permanentes

GRUPO 1: Nenhum tipo de tratamento realizado

GRUPO 2: Nenhum desafio erosivo realizado.

Os dentes foram imersos em solução salina.

GRUPO 3: Gel de Flúor fosfato acidulado a 1,23 % (FFA)

GRUPO 4: Gel de Fluoreto de Sódio a 2 %, pH neutro (NaF)

Foi utilizada uma quantidade padronizada de gel de FFA a 1,23% e gel de NaF a 2% (DFL Indústria e Comércio Ltda.) por meio de uma seringa de insulina. O gel foi aplicado na janela exposta durante 4 minutos. Após esse período, o excesso foi cuidadosamente removido com gaze.

GRUPO 5: Solução de Tetrafluoreto de titânio a 4 % (TiF₄)

Um algodão foi embebido em uma solução preparada de TiF₄ a 4% e mantido por 4 minutos sobre o dente. Após esse período, o excesso foi cuidadosamente removido com gaze.

GRUPO 6: Pasta tópica de caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo (CPP-APP) - MI Paste®

Neste grupo foi utilizada uma quantidade padronizada de pasta (MI Paste®) por meio de uma seringa de insulina. A pasta foi aplicada na janela exposta durante 3 minutos. Após esse período, o excesso foi cuidadosamente removido com gaze.

Após esse período de tratamento, todas as amostras foram imersas em frascos individuais identificados contendo 10 ml de solução salina por 24 horas a 37°C.

4.3.5 desafio erosivo

Após as 24 horas, os espécimes sofreram desafio erosivo. Para esse desafio, cada amostra foi imersa individualmente em um frasco identificado, inclusive as amostras do grupo 1, em 6 ml de ácido cítrico a 1 % pH 2,3 (SCHLUETER et al., 2007), a 37 °C, sob agitação, durante 10 minutos. Nos dentes do grupo 2, em vez de ácido cítrico, foi utilizado a solução salina descrita acima.

Após o desafio erosivo, as amostras foram removidas, lavadas com água destilada e armazenadas em frascos plásticos identificados para avaliação final da microdureza.

Dos 6 ml de ácido cítrico que restaram em cada frasco das amostras, 3 ml foram utilizados para avaliação da perda de cálcio e fósforo e 3 ml para avaliação de flúor.

4.3.6 avaliação da perda de cálcio e fósforo por meio de espectrometria de emissão atômica

Uma alíquota de 3 ml foi retirada de cada pote de solução das amostras, misturada a 3ml de ácido nítrico a 10% e inseridas em novos potes identificados.

Estes foram armazenados sob refrigeração, até a realização da análise quantitativa pela espectrometria de emissão atômica do conteúdo de cálcio e fósforo perdido do esmalte (MENDES et al., 2006). A retirada das alíquotas foi realizada com uma ponteira descartável para cada amostra, para que não ocorresse contaminação entre as amostras a serem avaliadas (MENDES, 2005).

O espectrômetro de emissão atômica é um equipamento utilizado para avaliação qualitativa e quantitativa de elementos químicos, onde a radiação eletromagnética (luz) é absorvida e/ou emitida por átomos da amostra experimental. Na maioria dos casos há emissão e absorção de radiação eletromagnética por átomos ou íons (NAVARRO, 2008).

No mecanismo de funcionamento do equipamento, a amostra é decomposta através de intenso calor (7000°C) em uma nuvem de gases quentes contendo átomos livres e íons do elemento a ser analisado, ocorrendo grande excitação por colisão dos átomos da amostra. A energia absorvida pelos átomos da amostra é muito alta, suficiente para que o elétron se separe do átomo, deixando um íon com carga positiva no processo chamado de ionização. A energia necessária para que ocorra este processo é o potencial de ionização, sendo variável para cada elemento químico (CECCHINI, 2001; NAVARRO, 2008).

Cada elemento tem seu nível de energia característico e seu próprio comprimento de onda de absorção e de emissão. Esta propriedade é que torna útil a espectrometria atômica na técnica de análise de determinação de elementos químicos (NAVARRO, 2008).

O mecanismo de excitação térmica é realizado através de um plasma do gás argônio, que pode determinar diferentes elementos ao mesmo tempo, sendo um plasma elétrico altamente ionizado e energético (NAVARRO, 2008).

As amostras de solução desmineralizadora são colocadas em um nebulizador que as transformam em aerosol para ser introduzida no equipamento junto com o plasma de argônio. Este irá remover os solventes do aerosol, vaporizar, decompor as partículas do sal em gás de moléculas individuais e atomizar (dissociar em átomo), levando à excitação e ionização dos átomos (NAVARRO, 2008).

A luz emitida, pelos átomos excitados e íons no plasma, é medida para se obter as informações da amostra analisada. Como os espécimes excitados no plasma emitem luz em diferentes comprimentos de onda, há uma emissão policromática. Esta emissão será separada em diferentes comprimentos de onda individuais, de modo que cada elemento químico excitado pode ser identificado, sem interferência da emissão dos outros comprimentos de onda. A separação da luz de acordo com o comprimento de onda é realizada utilizando um monocromador ou policromador. A informação qualitativa é realizada pela identificação do comprimento de onda característico dos diferentes elementos químicos presentes na amostra. A informação quantitativa é dada pela curva de calibração, que é a razão da medida da intensidade da radiação pela concentração, sendo esta realizada em duas leituras como margem de segurança (CECCHINI, 2001; NAVARRO, 2008).

No equipamento realizou-se primeiramente a leitura de uma solução padrão de cálcio com concentração pré-determinada, sendo que estes valores foram armazenados no programa para obtenção de uma curva de calibração. Em cada amostra foram realizadas duas leituras pelo equipamento, e a partir de uma curva de calibração, foi obtida a concentração do elemento químico analisado (em ppm).

Figura 4.7- Equipamento de Espectrometria de Emissão Atômica (Spectroflame Modula, Spectro Analytical Instruments, Kleve, Alemanha).

4.3.7 análise da concentração de flúor

Uma alíquota de 2 ml foi retirada de cada pote de solução das amostras para avaliação da quantidade de flúor presente e acondicionadas em potes identificados.

A análise de flúor foi feita após difusão facilitada por HMDS (hexametildisiloxano), pelo método de TAVES (1968), modificado por WHITFORD (1996). Para tanto, foram colocados 0,5 ou 1,0 ml de amostra em placas de Petri plásticas (Falcon, nº 1007), sendo o volume final completado para 2 ml com água deionizada. Na tampa destas placas, foram colocados 50 microlitros de hidróxido de sódio (NaOH) 0,05 M, distribuídos em 5 gotas. As placas foram fechadas, seladas com vaselina, e por um orifício feito previamente na tampa foi colocado o HMDS (Aldrich, 2,0 ml em ácido sulfúrico 3 M). O orifício foi imediatamente selado com vaselina e filme laboratorial. As placas foram colocadas numa mesa agitadora (Nova Técnica, modelo NT 145) em velocidade 2-3, durante três horas. Posteriormente, as

tampas foram removidas, invertidas e as gotas de NaOH foram combinadas numa única gota. O NaOH foi tamponado pela adição de 25 microlitros de ácido acético 0,2M. O volume total foi então ajustado para 75 microlitros com água deionizada usando uma pipeta. A gota, que continha todo o flúor da amostra foi analisada com o eletrodo Orion 9409 e um micro-eletrodo de referência calomelano (Accumet, número de catálogo #13-620-79), ambos acoplados ao potenciômetro Orion EA 940. Durante a leitura, os dois eletrodos foram mantidos unidos através de bandas de borracha e colocados em contato com a gota na parte interna da tampa da placa.

O princípio químico do método é baseado na dissociação de moléculas de HMDS na presença de ácido forte numa placa de difusão. O flúor (das amostras ou soluções-padrão) liga-se ao radical silano, formando um composto volátil, chamado trimetilfluorsilano. Este composto se difunde para o "trap", de natureza alcalina (NaOH), localizado no interior da tampa fixada no fundo da placa de difusão. O flúor é trocado pelo íon hidroxila. Um novo composto é formado (trimetilsilanol), sendo o flúor liberado.

As soluções-padrão (contendo 0,5, 1,0, 5,0, 10,0, 50,0 nm F) empregadas na realização da curva de calibração foram preparadas por diluição seriada de um estoque-padrão contendo 0,1 M F⁻ (Orion) e difundidas em triplicata, em concomitância com as amostras analisadas. Foi feita a primeira leitura antes de se começar a ler as amostras, a segunda quando a metade das amostras já tinha sido lida e a terceira após o término da leitura das amostras. Além disto, padrões que não sofreram difusão foram preparados usando-se as mesmas soluções (NaOH 0,05 M e ácido acético 0,20 M) que foram usadas para se preparar os padrões e amostras que sofreram difusão. Estes padrões não difundidos foram feitos de modo a ter exatamente a mesma concentração de flúor que os padrões que sofreram difusão. A

comparação das leituras de milivoltagem (mV) mostrou que o flúor nos padrões difundidos foi completamente captado e analisado. As leituras obtidas em mV, foram convertidas para mg de flúor, através do Programa Excel (Microsoft). A média das leituras obtidas a partir dos padrões foi inserida na planilha, e então foi calculada a porcentagem de variação entre a quantidade de flúor medida e a esperada pelos padrões. Os resultados da quantidade de flúor foram divididos pela área dos espécimes, obtendo-se então a liberação de flúor em $\mu\text{g F}^-/\text{mm}^2$, sendo então tiradas as médias das leituras. Somente curvas de calibração com porcentagem de variação de até 5% para todos os padrões e r maior ou igual a 0,99 (linearidade) foram aceitas, contemplando a exatidão do método. Sempre que possível, as análises foram feitas em duplicatas.

Figura 4.8- Preparo e aparelhos utilizados para análise do flúor

4.3.8 análise em lupa estereoscópica

Posteriormente, as janelas de cada espécime foram medidas em lupa estereoscópica (aumento de 10 X), acoplada a uma câmera digital CCD com o auxílio de um programa de análise de imagens (Leica Qwin) para correlacionar o tamanho da área exposta e a perda de cálcio e fósforo. Essas medidas foram calculadas em $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ (MENDES, 2005).

Figura 4.9- Câmera e programa de análise de imagens Leica Qwin (Leica Microsystems)

4.3.9 avaliação da microdureza superficial final

Ao final do experimento, foi realizada a microdureza superficial dos espécimes utilizando o mesmo microdurômetro e com as mesmas especificações citadas anteriormente. A média das indentações (microdureza inicial e final) foram utilizadas

para avaliar a porcentagem de perda de microdureza de superfície (% PDS) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\%PDS = (\text{microdureza inicial} - \text{microdureza final}) / \text{microdureza inicial}$$

4.3.10 análise estatística

A análise estatística deste trabalho foi realizada por meio de tabelas, estatísticas descritivas (média e desvio-padrão) e testes estatísticos. Os dados foram tratados por meio de análise quantitativa de forma a subsidiarem as análises e conclusões. Para a verificação da normalidade dos dados foram executados gráficos Box-Plot e o teste de normalidade de Anderson Darling dos grupos, utilizando-se o programa MINITAB. Com o auxílio deste programa foi checada a existência e retirado os *outliers* (valores extremos) e *missing values* (valores nulos ou em branco) que poderiam distorcer a análise.

Com o objetivo de comparar a média entre os grupos, entre os tipos de dentes (decíduos e permanentes) e sua interação (dentes X grupos), foram realizados os testes estatísticos Análise de Variância de dois fatores (*two-way ANOVA*) e o teste de comparações múltiplas de *Tukey* com nível de significância de 5% para a análise de dureza inicial, porcentagem de perda de microdureza de superfície, perda de cálcio e flúor, pois houve normalidade e homogeneidade dos dados.

Para análise da perda de fósforo entre os grupos foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis e posteriormente as médias dos dentes foram comparadas utilizando-se o teste de Mann-Whitney, visto que para essa variável os valores das amostras não apresentaram distribuição normal.

5 RESULTADOS

Inicialmente foi verificado se havia diferença entre a microdureza superficial do esmalte dos dentes decíduos e permanentes e entre os grupos experimentais. Na Tabela 5.1, estão apresentados os resultados médios (médias e desvios-padrão) referente aos valores de microdureza. Pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos e dentes ($p > 0,05$).

Tabela 5.1 Valores (média $\pm$ desvio – padrão) da microdureza inicial do esmalte dos dentes decíduos e permanentes para os diferentes tipos de tratamento

Grupos	Dentes Permanentes	Dentes Decíduos	Total Grupos
Controle Positivo	387,7 $\pm$ 39,5	357,4 $\pm$ 40,6	372,5 $\pm$ 41,9
Controle Negativo	383,3 $\pm$ 36,0	374,9 $\pm$ 48,5	379, 0 $\pm$ 41,8
NaF	390,3 $\pm$ 18,4	372,2 $\pm$ 49,2	380,3 $\pm$ 36,1
TiF₄	368, 7 $\pm$ 31,4	391,9 $\pm$ 38,4	374,7 $\pm$ 33,3
FFA	388,9 $\pm$ 27,4	360,5 $\pm$ 33,8	381,2 $\pm$ 37,3
CPP-ACP	387,9 $\pm$ 31,5	374,3 $\pm$ 20,3	381,1 $\pm$ 26,7
Total dentes	384,4 $\pm$ 31,0	371,8 $\pm$ 39,6	

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) nem entre os grupos, e nem entre os dentes

Em seguida calculou-se a porcentagem de perda da microdureza superficial (PDS%) após o desafio erosivo, da maneira que segue:

$$\%PDS = \frac{\text{microdureza inicial} - \text{microdureza final}}{\text{microdureza inicial}}$$

As médias e desvios-padrão da porcentagem de perda da microdureza de todos os grupos experimentais dos dentes decíduos e permanentes estão expressas

na Tabela 5.2. A Análise de Variância dos valores da perda média de microdureza superficial (PDS %) foi realizada considerando os fatores Tratamento e Dente e sua interação. O teste complementar de Tukey ($p < 0,05$) foi aplicado para comparação entre as médias.

Esta análise indicou não existir diferença entre os tipos de dente, ou seja, tanto dente decíduo como o permanente responderam de forma semelhante aos tipos de tratamento ($p = 0,972$). No entanto, os valores da perda média de microdureza superficial obtidos após o desafio erosivo foram diferentes em função do grupo de tratamento ($p < 0,001$) para cada dentição. Com relação aos dentes permanentes, todos os grupos experimentais sofreram significativa perda na microdureza superficial do esmalte quando comparados ao grupo controle negativo, mas sem diferença entre si (Tabela 5.2).

Nos dentes decíduos, todos os grupos também apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparados ao controle negativo. Observa-se também, que nesta dentição, o controle positivo apresentou perda mineral estatisticamente maior que o grupo do tetrafluoreto de titânio e o flúor fosfato acidulado, conferindo a estes produtos um papel protetor frente ao desafio erosivo na dentição decídua (Tabela 5.2).

Quando foram considerados dentes decíduos e permanentes, constatou-se que o grupo CPP- ACP e FFA foram os que apresentaram maior proteção ao tecido dental, sendo estatisticamente diferente do controle positivo ($p = 0,036$).

Tabela 5.2 - Valores (média $\pm$ desvio – padrão) da perda média de microdureza superficial (PDS %) nos dentes decíduos e permanentes para os diferentes tipos de tratamento

Grupos	Dentes Permanentes	Dentes Decíduos	Total Grupos
Controle Positivo	18,4 $\pm$ 2,0 a	23,5 $\pm$ 6,2 a	21,0 $\pm$ 5,2 a
Controle Negativo	3,5 $\pm$ 5,1 b	0,19 $\pm$ 2,8 b	1,8 $\pm$ 4,3 b
NaF	19,5 $\pm$ 4,3 a	17,5 $\pm$ 3,6 a,c	18,5 $\pm$ 4,0 a,c
TiF₄	18,1 $\pm$ 3,7 a	15,8 $\pm$ 2,5 c	17,0 $\pm$ 3,3 a,c
FFA	14,7 $\pm$ 2,7 a	14,9 $\pm$ 3,8 c	14,8 $\pm$ 3,2 c
CPP-ACP	15,3 $\pm$ 6,7 a	17,6 $\pm$ 7,1 a,c	16,4 $\pm$ 6,8 c
Total Dentes	14,9 $\pm$ 6,8	14,9 $\pm$ 8,5	

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os grupos (linhas) e asterisco indica diferenças ($p < 0,05$) entre os dentes (colunas)

A Tabela 5.3 apresenta as médias e desvios-padrão da perda de cálcio dos grupos experimentais dos dentes decíduos e permanentes. A análise de variância indicou haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento na dentição decídua e permanente ($p < 0,001$). Em ambas as dentições, a perda de cálcio foi estatisticamente menor no grupo controle negativo, sendo que os demais obtiveram valores semelhantes entre si.

Nota-se que embora não houve diferença entre os grupos de tratamento e o controle positivo, o grupo experimental que apresentou menor valor numérico de perda de mineral em ambas as dentições foi o do FFA ($p > 0,05$). Este produto mostrou também resultado inferior aos demais quando foram considerados todos os grupos experimentais, e o único estatisticamente menor quando comparado ao controle positivo (Tabela 5.3).

Não foi observada diferença estatisticamente significativa para os grupos em função do tipo de dente ($p > 0,05$). No entanto, quando se considerou todos os dentes

de todos os grupos, a dentição decídua apresentou uma perda significativamente maior de cálcio do que a dentição permanente ($p < 0,001$).

Tabela 5.3- Valores de perda de cálcio (média $\pm$ desvio – padrão) em $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ para os grupos experimentais e tipos de dente

Grupos	Dentes Permanentes	Dentes Decíduos	Total Grupos
Controle Positivo	7664 $\pm$ 2508 a	10278 $\pm$ 6016 a	8971 $\pm$ 4682 a
Controle Negativo	1823 $\pm$ 225 b	645 $\pm$ 529 b	426 $\pm$ 467 b
NaF	6534 $\pm$ 1708 a	10434 $\pm$ 3380 a	8484 $\pm$ 3286 a,c
TiF₄	6766 $\pm$ 2461 a	7983 $\pm$ 2721 a	7375 $\pm$ 2601 a,c
FFA	5605 $\pm$ 1036 a	7277 $\pm$ 1326 a	6397 $\pm$ 1433 c
CPP-ACP	7367 $\pm$ 2544 a	10539 $\pm$ 1547 a	8953 $\pm$ 2617 a
Total dentes	5780 $\pm$ 3119	7869 $\pm$ 4649 *	

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os grupos (linhas) e asterisco indica diferenças ($p < 0,05$) entre os dentes (colunas)

Na tabela 5.4 estão apresentados os valores da perda de fósforo pelos dentes decíduos e permanentes para cada grupo de tratamento e as comparações pelo teste de Kruskal Wallis e Mann Whitney. O teste de Kruskal Wallis indicou haver diferença entre os grupos de tratamento na dentição decídua e permanente ($p < 0,001$). Pode-se observar que houve uma perda de fósforo significativamente maior nos grupos experimentais que foram submetidos ao desafio erosivo tanto na dentição decídua, como na permanente.

Na dentição permanente, o grupo da caseína apresentou uma perda de fósforo estatisticamente maior que os demais grupos que sofreram o desafio, exceto ao grupo NaF.

Na dentição decídua, o grupo CPP- ACP e o NaF apresentaram uma perda de fósforo significativamente maior que o controle positivo e o grupo tetrafluoreto de titânio, sendo semelhante ao grupo FFA.

Quando foram considerados os grupos de tratamento da dentição decídua e permanente, observou-se que, o controle negativo diferiu de todos os grupos restantes, apresentando uma perda de fósforo significativamente menor que os demais. O grupo controle positivo, TiF_4 e FFA apresentaram resultados semelhantes, assim como houve semelhança entre os grupos NaF e CPP- ACP.

Quando foram comparados dentes decíduos e permanentes, foi observado que no grupo controle negativo, a dentição decídua obteve uma perda de fósforo significativamente menor que a dentição permanente ($p=0,0003$). Já no grupo NaF, a dentição decídua sofreu uma perda maior de fósforo em relação a dentição permanente ($p=0,0455$). Nos demais grupos, não foram observados diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Tabela 5.4 - Valores de perda de fósforo (média $\pm$ desvio – padrão) em $\mu g/mm^2$ para os grupos experimentais e tipos dentes

Grupos	Dentes Permanentes	Dentes Decíduos	Total Grupos
Controle Positivo	350,0 $\pm$ 147,9 a	298,1 $\pm$ 142,6 a	324,1 $\pm$ 143,9 a
Controle Negativo	75,8 $\pm$ 26,3 b	- 29,3 $\pm$ 13,8 b *	20,5 $\pm$ 57,6 b
NaF	347,3 $\pm$ 53,9 a,c	651,6 $\pm$ 458,9 c *	490,5 $\pm$ 570,6 c
TiF_4	288,1 $\pm$ 80,5 a	266,3 $\pm$ 60,7 a	278,4 $\pm$ 71,2 a
FFA	288,8 $\pm$ 93,3 a	269,1 $\pm$ 97,5 a,c	279,0 $\pm$ 92,8 a
CPP-ACP	1182,6 $\pm$ 1068,3 c	355,6 $\pm$ 93,3 c	815,0 $\pm$ 887,7 c
Total dentes	434,3 $\pm$ 570,4	403,0 $\pm$ 521,8	

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças ($p<0,05$) entre os grupos (linhas) e asterisco indica diferenças ($p<0,05$) entre os dentes (colunas)

As médias e desvios - padrão da concentração de flúor de todos os grupos experimentais dos dentes decíduos e permanentes estão expressas na Tabela 5.5.

Pôde-se constatar que na dentição permanente, todos os grupos obtiveram valores semelhantes, não apresentando diferença estatisticamente significativa entre si ($p>0,05$).

Para a dentição decídua, os valores de flúor só foram diferentes entre o controle positivo e negativo ($p= 0,001$), sendo que ambos (controle positivo e negativo) foram semelhantes aos demais grupos experimentais ($p>0,05$) (Tabela 5.5).

Quando foram analisados todos os grupos, pôde-se observar que o grupo controle positivo apresentou um resultado significativamente maior que o controle negativo e o grupo FFA, e valores semelhantes ao grupo NaF, TiF_4 e CPP- ACP.

Não houve diferença estatisticamente significativa, quando comparado a perda de flúor entre dentição decídua e permanente ($p=0,188$).

Tabela 5.5 - Valores de flúor (média $\pm$ desvio – padrão) em $\mu g/mm^2$ para os diferentes grupos experimentais e tipos dentes

Grupos	Dentes Permanentes	Dentes Decíduos	Total Grupos
Controle Positivo	0,3013 $\pm$ 0,1892 a	0,3150 $\pm$ 0,2028 a	0,3070 $\pm$ 0,1887 a
Controle Negativo	0,1946 $\pm$ 0,0579 a	0,1235 $\pm$ 0,0533 b	0,1591 $\pm$ 0,0653 b
NaF	0,1647 $\pm$ 0,1061 a	0,2599 $\pm$ 0,1249 a, b	0,2148 $\pm$ 0,1232 a, b
TiF_4	0,1863 $\pm$ 0,0498 a	0,2496 $\pm$ 0,1367 a, b	0,2196 $\pm$ 0,1073 a, b
FFA	0,1805 $\pm$ 0,0341 a	0,1731 $\pm$ 0,0720 a, b	0,1766 $\pm$ 0,0559 b
CPP-ACP	0,2885 $\pm$ 0,1116 a	0,1942 $\pm$ 0,0667 a, b	0,2659 $\pm$ 0,2005 a
Total dentes	0,2434 $\pm$ 0,1784 a	0,2145 $\pm$ 0,1258 a, b	

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças ($p<0,05$) entre os grupos (linhas) e asterisco indica diferenças ($p<0,05$) entre os dentes (colunas)

Na figura 5.1 estão apresentadas a porcentagem da perda da microdureza superficial e as concentrações de cálcio, fósforo e flúor perdido em função do grupo de tratamento, considerando todos os dentes.

Figura 5.1- Porcentagem da perda da microdureza superficial e concentrações de cálcio, fósforo e flúor perdido em função do grupo de tratamento. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significante entre os grupos ($p < 0,05$)

Na figura 5.2 estão apresentadas a porcentagem de perda da microdureza superficial e as concentrações de cálcio, fósforo e flúor em função do tipo de dentição, quando foram considerados todos os grupos experimentais.

Figura 5.1- Porcentagem da perda da microdureza superficial e concentrações de cálcio, fósforo e flúor perdido em função do grupo de dente. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significante entre os grupos ($p < 0,05$)

6 DISCUSSÃO

A erosão dental tem sido amplamente estudada em adultos, e considerada por diversos autores como um problema crescente (AL-MAJED; MAGUIRE; MURRAY, 2002; AMAECHI; HIGHAM, 2005; DOWNER, 1995; JENSDOTTIR; BARDOW; HOLBROOK, 2005; LINNETT; SEOW, 2001; NUNN, 1996; O'SULLIVAN; CURZON, 2000; PERES et al., 2005; SHAW; SMITH, 1998; VAN RIJKOM et al., 2003). Embora haja poucos estudos sobre a erosão em dentes decíduos, alguns relatos (AL-MAJED; MAGUIRE; MURRAY, 2002; CORRÊA, 2006; HARDING et al., 2003; LUO et al., 2005; MILLWARD; SWAW; SMITH, 1994; O'BRIEN, 1994; WIEGAND; MULLER; ATTIN, 2006) indicam a sua alta prevalência também na população infantil.

A consulta à literatura especializada revelou que, no que se refere à erosão dental, um dos aspectos que desperta maior interesse e preocupação nos estudiosos é a busca de estratégias para monitorá-la e preveni-la. Sendo assim, o presente estudo avaliou a ação de agentes químicos na prevenção da erosão dental de dentes decíduos e permanentes.

A erosão dental química é ocasionada por íons hidrogênio derivados de ácidos fortes/fracos ou por ânions que têm a capacidade de se ligar e formar complexos com o cálcio. Estes últimos são conhecidos como agentes quelantes. Ácidos orgânicos simples, como o hidrocloreídrico, raramente estão presentes na cavidade oral. A maior preocupação são os ácidos fracos, como o cítrico e o acético (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

Como a proposta deste estudo não foi estudar as características das bebidas erosivas, optou-se pela utilização do ácido cítrico, pois este é considerado um ácido com forte potencial erosivo (MEURMAN; FRANK, 1991; WEST; HUGHES; ADDY, 2001). A interação dos ácidos, como o ácido cítrico, é complexa e, em meio aquoso, tais elementos se apresentam como uma mistura de íons hidrogênio, ânions ácidos (como o citrato) e moléculas ácidas não dissociadas. Nessa mistura, a quantidade de cada constituinte é determinada pelo potencial constante de dissociação ácida (pKa) e pelo pH da solução. Assim, o íon hidrogênio ataca diretamente a superfície cristalina, enquanto o ânion citrato pode se ligar ao cálcio e removê-lo da superfície cristalina. Cada ânion ácido apresenta uma força diferente de combinação com o cálcio, que depende da estrutura da molécula e de quão facilmente ela pode atrair o íon cálcio. Portanto, ácidos como o cítrico têm ação dupla e são extremamente danosos para a superfície dental. O ácido cítrico, em pH mais baixo - como pH 2 -, fornece íons hidrogênio para atacar diretamente a superfície mineral e, em pH mais elevado - como pH 7 -, o ânion citrato remove o cálcio da superfície de cristal. Em valores de pH intermediários, verifica-se a ocorrência dos dois mecanismos. Essa dupla ação de dissolução da superfície mineral também ocorre com o ácido fosfórico (FEATHERSTONE; LUSSI, 2006).

O ácido cítrico, seguido pelo ácido málico, são os ácidos mais comumente encontrados em frutas e vegetais (JOHANSSON et al., 2001; TING; ATTAWAY, 1971). Muitos produtos manufaturados também apresentam ácido cítrico em sua composição, como os sistemas de tamponamento, o citrato de sódio e misturas de bebidas ácidas, como refrigerantes do tipo *cola-diet*. O ácido málico predomina nas maçãs e nas bebidas derivadas dessa fruta, nas ameixas e nos pêssegos (WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO, 1977). O ácido tartárico é o principal ácido em

uvas, vinhos e tamarindo. Já o ácido láctico está presente em produtos fermentados, e é o ingrediente do iogurte, enquanto o ácido acético é usado em conservantes, utilizados, por exemplo, para a manutenção de pickles. O ácido oxálico é um componente do vegetal espinafre. O ácido fosfórico, um ácido mineral fraco, também é bastante consumido na dieta: é utilizado em vários produtos, principalmente em bebidas tipo cola, nas quais está contido na concentração aproximada de 0,1% peso por volume, e constitui-se no acidulante mais barato disponível, devido ao seu potencial e ao seu preço (WEST; HUGHES; ADDY, 2000).

Essa condição foi reproduzida na presente pesquisa com o pH 2,3 do ácido cítrico, acentuadamente mais ácido do que o pH 4,5 considerado por Imfeld (1996a), Larsen (2001), Shenkin et al. (2003) e Thystrup e Fejerskov (2001) como limiar crítico para a deflagração do processo erosivo. Com base nessa informação, não restam dúvidas sobre o potencial erosivo do elemento ácido aqui utilizado como desafio.

O tempo de exposição de 10 minutos foi escolhido, pois Meurman et al. (1990) demonstraram que 5 minutos de imersão do esmalte em bebida a base de cola promoveu uma desmineralização significativa, enquanto que o tempo de 1 minuto não causou desmineralização. Alguns outros estudos utilizaram tempos de exposição maiores, sendo muitas vezes realizados vários desafios em um mesmo dia durante um período prolongado (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999; HUNTER et al., 2000a; HUNTER et al., 2000b; JOHANSSON et al., 2001). Vale ressaltar, no entanto, que um tempo muito grande de exposição poderia inviabilizar o teste microdureza, visto que em muitos dos estudos acima citados foram utilizadas a microrradiografia e perfilometria, metodologias essas que permitem e requerem um desafio ácido maior (BARBOUR; RESS, 2004; GANSS; LUSSI; KLIMEK, 2005).

Neste estudo, a metodologia adotada para avaliação da erosão dental foram os testes de microdureza e análise química do mineral perdido na solução.

O teste de microdureza foi utilizado, pois este tem sido empregado como um método de avaliação da perda e da reincorporação de minerais do tecido dental, já que a redução do valor numérico de dureza apresenta relação com a perda mineral (BARBOUR; REES, 2004; FEAGIN et al., 1971; JOHANSSON et al., 2001; KOLOURIDES et al., 1974). Este método mensura o comprimento das indentações a partir de uma ponta de diamante, com dimensões conhecidas, que é pressionada na superfície do esmalte, com uma determinada força e tempo. É um método mecânico, sítio-dependente e específico para avaliação da perda ou ganho de mineral pelo tamanho da indentação, porém não permite a avaliação da localização e distribuição de minerais, bem como o desgaste do tecido dental (ZERO, 1995).

Todos os procedimentos de preparação dos espécimes para avaliação de microdureza foram cuidadosamente analisados, com o intuito de não alterar a superfície dentária. Cadwell et al. (1957) verificaram que as oscilações dos valores de superfície não polidas eram muito grandes. Desta forma, o polimento fez-se necessário para a obtenção de resultados precisos, com pouca variação. O esmalte polido provavelmente foi mais susceptível à erosão, pois inevitavelmente foi removida a camada externa da superfície do esmalte que por sua vez é mais resistente do que as camadas internas (ATTIN, 2006; MEURMAN; FRANK, 1991).

A carga do penetrador Knoop utilizado foi de 50 gramas por 15 segundos, como preconizado por Lussi et al. (2000). Esta foi considerada suficiente para a deformação permanente das estruturas avaliadas, não havendo uma deformação elástica que pudesse levar a alguma alteração. Estas cargas resultaram em indentações definidas com o mínimo de fraturas ao seu redor.

A influência da variação da carga nos valores de microdureza também é discutida na literatura. Há relatos de que variações na microdureza ocorrem quando são utilizadas cargas diferentes (CRAIG; PEYTON, 1958; MAHONEY et al., 2000), sendo que o aumento da carga implica no aumento da microdureza do esmalte e diminuição da microdureza da dentina (HEDGAHL; HAGEBO, 1972). Contrariamente a essas observações, Zárater-Pereira (2003) cita que a variação ocorre no tamanho da indentação, não afetando teoricamente o resultado final da microdureza Knoop.

Trabalhou-se somente com um grupo de dentes (molares decíduos e permanentes) para tentar homogeneizar a amostra. Cadwell et al. (1957) e Craig e Peyton (1958) afirmam que não há tendência clara de variação da microdureza entre os diferentes tipos de dentes permanentes. Já Rocha, Corrêa e Rodrigues (2004) demonstraram que o esmalte de molares decíduos apresenta dureza maior que o esmalte de caninos e incisivos.

A literatura apresenta claramente os valores de microdureza dos dentes permanentes, o que não ocorre com os dentes decíduos. Apesar das diferenças existentes entre dentes decíduos e dentes permanentes no que se refere ao grau de mineralização, à estrutura dentária, à perda mineral e à reatividade ao flúor (FEJERSKOV, 1997; SONJU CLASEN et al., 1997), poucos são os trabalhos voltados especificamente à microdureza dos primeiros. Tal escassez de investigações dificulta a comparação entre estudos que utilizam essa metodologia de avaliação, já que apenas Johansson et al. (2001) apontaram que os valores de microdureza superficial do esmalte são menores em dentes decíduos do que em dentes permanentes.

Neste estudo, os valores de microdureza inicial do esmalte dos dentes decíduos e permanentes para todos os grupos experimentais foram semelhantes,

não apresentando diferença estatisticamente significativa entre si (Tabela 5.1). Vale ressaltar também, que diferentes valores de microdureza são encontrados nas diversas localizações de um mesmo dente. Enquanto alguns autores citam que há um padrão estabelecido de microdureza (CRAIG; PEYTON, 1958), outros mencionam aumento ou diminuição, dependendo da região analisada (CIRANO, 2001; CRAIG; GEHRING; PEYTON, 1959; ROCHA, CORRÊA, RODRIGUES, 2004).

Após os tratamentos e desafio ácido, a porcentagem da perda média da microdureza superficial (Tabela 5.2), os valores da perda de fósforo (Tabela 5.4) e a análise de flúor (Tabela 5.5), não mostraram diferenças entre os tipos de dentes. No entanto, a análise da perda de cálcio mostrou que os dentes decíduos perderam uma quantidade de cálcio significativamente maior que os permanentes (Tabela 5.3). Isso pode ter ocorrido, pois sabe-se que os dentes decíduos apresentam esmalte aprismático na camada mais superficial, e sua composição química é diferente daquela dos dentes permanentes (GWINNET, 1992). Seu esmalte e dentina são mais finos e porosos, com menor grau de mineralização, maior concentração de carbonato, menor conteúdo de fósforo e cálcio (FEJERSKOV et al., 1987; HARDING; SATANOVISKY; SIMMELINK, 1996; MEURMAN; TEN CATE, 1996; NAUJOKS; SCHADE; ZELINKA, 1967), menor arranjo de microcristais e menor concentração de flúor (LIPPERT; PARKER; JANDT, 2004). Além disso, o coeficiente de difusão é maior no esmalte de dentes decíduos do que no esmalte de dentes permanente, devido ao conteúdo mineral de cada um (HUNTER et al., 2000a).

Featherstone e Mellberg (1981) demonstraram em estudos *in vitro* que os dentes decíduos têm uma maior susceptibilidade ao ataque ácido causado pela cárie em relação aos dentes permanentes. Diferenças no posicionamento, na quantidade e na composição química dos prismas de esmalte entre as diversas áreas da coroa

clínica de um mesmo dente, e entre um dente e outro também devem ser considerados (GWINNETT, 1992).

É importante ressaltar que as alterações que o esmalte pode sofrer em função da idade, como a diminuição da permeabilidade, a exposição ao flúor, o risco do paciente à cárie e outros, podem provocar diferentes reações quando de sua exposição a substâncias ácidas (MAC PHERSON et al., 1991; TEN CATE; IMFELD, 1996).

Em função do que foi exposto, esperava-se também que a perda da microdureza superficial dente decíduo fosse maior que o dente permanente. No entanto, não foi o que ocorreu neste estudo, pois os valores de microdureza foram semelhantes para as duas dentições após tratamento e desafio ácido. Esses resultados corroboram os estudos de Lippert, Parker e Jandt (2004) e contradizem os estudos de Amaechi, Higham e Edgar (1999) e Johansson et al. (2001) que observaram que a velocidade de progressão da erosão foi 1,5 vez mais rápida nos dentes decíduos que nos permanentes.

Uma possível explicação para esse achado pode estar relacionada ao tempo de exposição ao desafio erosivo. Assume-se que a perda mineral poderia ser diferente para as dentições se o tempo de exposição fosse maior do que a utilizada nesse estudo, já que nos trabalhos de Hunter et al. (2000b) os dentes decíduos só apresentaram uma perda mineral maior após dez e quinze dias de desafio erosivo. Vale enfatizar que todos os trabalhos que compararam a perda mineral frente ao desafio erosivo entre as dentições decídua e permanente não foram realizados com nenhum tratamento prévio.

Em relação aos tratamentos com fluoretos, a literatura científica é bastante controversa. Enquanto alguns autores (GANSS et al., 2001; HUGHES; WEST;

ADDY, 2004; MEDEIROS; BRUM, 1998; SCHLUETER et al., 2007; SORVARI et al., 1994; VAN RIJKOM et al., 2003; VIEIRA; RUBEN; HUYSMANS, 2005; VIEIRA et al., 2007; WIEGAND et al., 2008) postulam que aplicações tópicas de flúor – sob várias formas, como verniz fluoretado, fluoreto estanhoso, tetrafluoreto de titânio, gel acidulado e terapia intensiva com dentifrício fluoretado e gel acidulado - são eficientes, outros afirmam que a efetividade do tratamento é limitado na inibição da erosão (LARSEN, 2001; LARSEN; RICHARDS, 2002; MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008). Essas controvérsias podem ser decorrentes da utilização de diferentes produtos e metodologias, o que dificulta a comparação dos resultados.

Neste estudo, os resultados em relação à perda média da microdureza superficial mostraram que o tratamento com flúor, foi capaz de inibir a erosão dental somente na dentição decídua quando utilizado o FFA e TiF_4 , e quando avaliado dentes decíduo e permanente na utilização do FFA. A aplicação tópica de flúor não foi efetiva na dentição permanente (Tabela 5.2).

Na análise da perda de cálcio, o flúor não foi efetivo quando analisado separadamente dentição decídua e permanente. No entanto, o FFA mostrou um efeito protetor quando foram analisados ambos os grupos (Tabela 5.3). Já na análise da perda de fósforo, a aplicação tópica de flúor não foi efetiva em nenhuma das análises (Tabela 5.4). Assim sendo, é possível inferir que somente algumas formas de flúor são capazes de minimizar a erosão do esmalte.

Parte desses resultados pode ser explicada, pois o processo de erosão é decorrente da ação de ácidos cujo pH é menor do que 5,5, valor este inferior aos limites críticos para a hidroxiapatita e pH 4,5, valor crítico para a fluorapatita, causando assim a dissolução de minerais que estão presentes no esmalte e resultando em uma lesão superficial (IMFELD, 1996b; LARSEN, 2001; SHENKIN et

al., 2003; THYSTRUP; FEJERSKOV, 2001), onde o mineral dental é dissolvido camada por camada, e a subsuperfície do esmalte mantém-se praticamente inalterada (LARSEN; NYVAD, 1999). De fato, parece que o tratamento com fluoretos até poderia diminuir a velocidade de erosão, mas não consegue inibir totalmente esse processo, o que pode explicar as diferenças obtidas no presente estudo e em outros trabalhos.

Quanto à ação efetiva do flúor em alguns grupos, acredita-se que, a ação deste agente se dá devido à formação de uma barreira mecânica por meio da deposição de fluoreto de cálcio na superfície dentária (MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008), o qual é formado a partir de uma aplicação tópica de fluoreto ionizável e, posteriormente, é recoberto por fósforo e proteínas (CHRISTOFFERSEN et al., 1988). A quantidade de fluoreto de cálcio formado está diretamente relacionada a sua concentração, tempo de exposição da substância fluoretada utilizada e menor pH do meio (SAXEGAARD; ROLLA, 1988).

Além da barreira mecânica, o fluoreto liberado do fluoreto de cálcio, juntamente com o fluoreto presente na saliva apresenta um importante papel na remineralização de uma lesão erosiva. Quando há fluoreto suficiente no meio bucal haverá a formação da hidroxiapatita fluoretada, o que torna o esmalte menos solúvel para o próximo ataque ácido. No entanto, se essa remineralização é seguida de um desafio erosivo severo, com ácidos quelantes, mesmo a hidroxiapatita fluoretada sendo mais resistente pode ser solubilizada, resultando na erosão da superfície (MAGALHÃES; RIOS; BUZALAF, 2008). A formação de fluoreto de cálcio que ocorre após aplicação de produtos tópicos de flúor pode ter confundido alguns resultados obtidos com as análises iônicas, uma vez que parte do cálcio e do flúor perdido na solução pode ter sido proveniente desse fluoreto de cálcio, e não do dente devido ao

processo erosivo. Por isso, os resultados do presente estudo, principalmente referentes às análises iônicas, devem ser interpretados com cautela.

O composto fluoretado mais investigado com relação à prevenção da erosão dental é o NaF. Quando utilizado em conjunto, dentifrício e solução, o gel de NaF reduziu significativamente a erosão *in vitro* (GANSS et al., 2001) e *in situ* (GANSS et al., 2004). Isoladamente, o gel de NaF foi eficaz nas porcentagens de 1% (VAN RIJKOM et al., 2003), 1,20% (SORVARI et al., 1994) e 2,2 % (JONES et al., 2002). No entanto, seu efeito mostrou ser menor que o FFA (JONES et al., 2002) e menor e menos estável que o do TiF_4 (VAN RIJKOM et al., 2003; VIEIRA; RUBEN; HUYSMAN, 2005), resultados estes que corroboram o presente estudo. Uma explicação para a efetividade do FFA, é que o ataque ácido do esmalte aumenta a área da superfície reativa (LUOMA et al., 1986), fazendo com que haja uma maior formação de fluoreto de cálcio. Já para o tetrafluoreto de titânio, acredita-se que há uma redução na solubilidade do esmalte após sua aplicação devido a uma camada com a aparência de um glase que é formada sobre a superfície do dente (BÜYÜKYILMAZ; OGAARD; ROLLA, 1997; HOVE et al., 2006; VAN RIJKOM et al., 2003). Wei, Soboroff e Wefel (1976) relatam que o titânio forma complexos muito fortes, tanto com o fluoreto, quanto com o esmalte, fazendo com que esta camada seja ácido-resistente de difícil remoção por banhos de saliva.

O CPP- ACP mostrou-se efetivo na minimização da erosão dental somente quando foram considerados dentes decíduos e permanentes por meio da análise da perda média de microdureza superficial (Tabela 5.2). Na análise química da perda de cálcio e fósforo, os valores médios deste grupo foram superiores aos demais, muito provavelmente pela própria composição da pasta (Tabela 5.3 e 5.4). Este resultado corrobora o achado de Yamaguchi et al. (2007), que sugerem que o CPP-

ACP poderia exercer efeitos protetores na erosão dental suprimindo a desmineralização, aumentando a remineralização ou atuando em combinação desses dois processos. Segundo Reynolds et al. (2003) este fato se dá devido ao aumento dos pontos de adesão na película do biofilme e à superfície de bactérias, para o cálcio e fosfatos inorgânicos, tornando a difusão dos íons mais lenta, reduzindo a perda mineral. Essas moléculas ainda têm a capacidade de se aderirem a película salivar e aos tecidos moles, de tal forma que os complexos CPP-ACP permaneçam por mais tempo no meio bucal. Cada molécula de CPP- ACP, pode agrupar até 25 íons de cálcio, 15 de fosfato e 5 de flúor, estabilizando- os na saliva (REYNOLDS et al., 2003). No presente estudo, apenas a inibição da desmineralização foi avaliada. Outro fato é que os experimentos foram realizados em dentes fora da cavidade bucal, e portanto, essa interação com película e bactérias não pode ser avaliada. Futuros estudos são necessários para avaliar o efeito do CPP-ACP no aumento da remineralização após desafios erosivos, bem como estudos *in situ* e *in vivo* para avaliar o potencial do produto contra a erosão dental.

De modo geral, e baseando-se principalmente nos resultados da perda média de microdureza superficial, os resultados obtidos neste trabalho mostram que o FFA e o TiF_4 foram efetivos na prevenção da erosão dental na dentição decídua e o CPP-ACP somente foi efetivo quando foram considerados os dois tipos de dentição. No entanto, devido à falta de consenso e a escassez de trabalhos voltados principalmente para o efeito protetor do CPP-ACP, há necessidade da realização de novas pesquisas para a aplicação destes produtos na clínica.

Convém lembrar, que para o desenvolvimento e prevenção da erosão dental, há que se considerar os fatores químicos, biológicos e comportamentais. (ZERO; LUSI, 2005).

A capacidade erosiva das bebidas é avaliada a partir da medição do pH, da capacidade tampão e da composição química, tipo e capacidade de dissociação iônica do ácido, concentrações de cálcio, flúor e fosfato e tempo de exposição necessário para que o processo de desmineralização tenha início (BARBOUR et al., 2006; HUGHES et al., 2000; LARSEN; NYVAD, 1999; NUNN, 1996; WEST; HUGHES; ADDY, 2000; WEST; HUGHES; ADDY, 2001; ZERO; LUSI, 2005).

Os fatores biológicos que afetam o processo erosivo são a saliva, a película adquirida, a estrutura dentária e sua posição em relação aos tecidos moles e a língua (LUSI; JAEGGI; ZERO, 2004; WETTON et al., 2006; ZERO, 1996; ZERO; LUSI, 2005). Estudos têm evidenciado que a saliva é o fator biológico mais importante na prevenção da erosão dental. Isto porque o fluxo salivar aumenta, antes mesmo do ataque ácido, em resposta a estímulos extra-orais como o olfato e a visão. O aumento do fluxo salivar eleva a capacidade tampão da saliva, dilui e remove os ácidos que se aderem às superfícies dentárias durante o desafio erosivo (ZERO; LUSI, 2005) e institui a prevenção ou a minimização do ataque erosivo inicial devido ao aumento de componentes orgânicos e inorgânicos da saliva (DAWES; KUBIENIEC, 2004).

Em relação aos fatores comportamentais, pode-se citar a busca por um estilo de vida saudável, que inclui a prática de exercícios físicos e o consumo regular de frutas e vegetais (CORRÊA, 2006; REES; LOYN; McANDREW, 2005), o modo, temperatura e a velocidade de ingestão da bebida (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999; BARBOUR et al., 2006; FACHIN, 2007; WEST; HUGHES; ADDY, 2000), o

período do dia em que a exposição ao ácido ocorre (JARVINEN; RYTOMAA; HEINONEN, 1991; O'SULLIVAN; CURZON, 2000) e o padrão de higiene bucal do indivíduo (MAGALHÃES et al., 2007; RIOS et al., 2006a).

Contudo, é importante salientar que o potencial erosivo nos estudos *in vitro* são superestimados e o papel preventivo dos produtos são subestimados, pois não englobam todo os fatores supracitados, promovendo assim uma maior perda mineral em relação aos estudos *in situ* e dificultando a extrapolação dos resultados para uma condição *in vivo* (HALL et al., 1999; HUGHES et al., 1999; LUSSI, JAEGGI, SCHARER, 1993). Desta forma, seria muito interessante a realização de um estudo *in situ* com o uso do CPP- ACP, com melhor simulação dos eventos intrabuciais e padronização das condições experimentais.

Embora alguns produtos avaliados no presente estudo tenham diminuído os efeitos provocados pela erosão, nenhum deles inibiu completamente o processo. Dessa forma, apesar dos estudos avaliarem diferentes métodos de prevenção da erosão dental, vale ressaltar que se o fator causal não for controlado com a orientação e a motivação em relação aos hábitos que promovem tal perda, o desgaste continuará ocorrendo. Sendo assim, a disseminação de medidas educativas e preventivas para a conscientização da população no que diz respeito à perda de estrutura mineral que a erosão pode provocar é uma necessidade.

7 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o tetrafluoreto de titânio, o flúor fosfato acidulado e a caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo são efetivos na diminuição da erosão dental, embora nenhum tratamento seja capaz de inibir totalmente a perda mineral. De um modo geral, o tipo de dente (decíduos ou permanentes) não apresenta diferenças significativas na suscetibilidade à erosão.

REFERÊNCIAS¹

Al-Majed I, Maguire A, Murray JJ. Prevalence and risk factors for dental erosion in 5-6 year old and 12-14 year old boys in Saudi Arabia. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002;30(1):38-46.

Ali DA, Brown RS, Rodriguez LO, Moody EL, Nasr MF. Dental erosion caused by silent gastroesophageal reflux disease. *J Am Dent Assoc* 2002;133(6):734-7.

Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *J Dent* 2005;33(3):243-52.

Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. The influence of xylitol and fluoride on dental erosion in vitro. *Arch Oral Biol* 1998;43(2):157-61.

Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil* 1999;26(8):624-30.

Attin T. Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci* 2006;20:152-72.

Attin T, Knöfel S, Buchalla W, Tütüncü R. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res* 2001;35(3):216-22.

Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A. Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion. *Oral Dis* 2005;11(1):7-12.

Attin T, Zirkel C, Hellwig E. Brushing abrasion of eroded dentin after application of sodium fluoride solutions. *Caries Res* 1998;32(5):344-50.

Barbour ME, Finke M, Parker DM, Hughes JA, Allen GC, Addy M. The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. *J Dent* 2006;34(3):207-13.

---

¹ De acordo com o Estilo Vancouver. Abreviaturas de periódicos segundo a Base de Dados MEDLINE.

Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent* 2004;32(8):591-602.

Barr ES, Barr NV. Acid erosion and gastroesophageal reflux (GER) in children. *Children's Dent, A Partnership Newsletter* 2005;5(1):1-7.

Barron RP, Carmichael RP, Marcon MA, Sandor GKB. Dental erosion in gastroesophageal reflux disease. *J Can Dent Assoc* 2003;69(2):84-9.

Bartlett D. Intrinsic causes of erosion. *Monogr Oral Sci* 2006;20:119-39.

Bartlett DW, Smith BG, Wilson RF. Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on tooth wear in vitro and the influence of enamel fluoride concentration and hardness of enamel. *Br Dent J* 1994;176(9):346-8.

Beiraghi S, Atkins S, Rosen S, Wilson S, Odom J, Beck M. Effect of calcium lactate in erosion and S. Mutans in rats when added to Coca Cola. *Pediatr Dent* 1989;11(4):312-5.

Blanksma CJ, Brand HS. Cocaine abuse: orofacial manifestations and implications for dental treatment. *Int Dent J* 2005;55(6):365-9.

Büyükyilmaz T, Ogaard B, Rølla G. The resistance of titanium tetrafluoride-treated human enamel to strong hydrochloric acid. *Eur J Oral Sci* 1997;105(5):473-7.

Cadwell RC, Muntz ML, Gilmore RW, Pigman W. Microhardness studies of intact surface enamel. *J Dent Res* 1957;36:732-8.

Cecchini RCM. Estudo in vitro do efeito da radiação do laser de Er:YAG em esmalte dental: análise de espectrometria de emissão atômica e microscopia eletrônica de varredura [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP;2001.

Centerwall BS, Armstrong CW, Funkhouser GS, Elzay RP. Erosion of dental enamel among competitive swimmers at a gas-chlorinated swimming pool. *Am J Epidemiol* 1986;123(4):641-7.

Chaudry SI, Harris JL, Challacombe SJ. Dental erosion in a wine merchant: an occupational hazard? *Br Dent J* 1997;182(6):226-8.

Chikte UM, Grobler SR, Kotze TJ. In vitro human dental enamel erosion by three different wine samples. *SADJ* 2003;58(9):360-2.

Cirano FR. Avaliação da microdureza dos tecidos dentários: esmalte, dentina e cimento [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2001.

Corrêa MSNP. Influência dos fatores extrínsecos e intrínsecos no desenvolvimento da erosão dental em crianças e adolescentes [Tese de Livre Docência]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

Costa CCD, Almeida ICS, Raymundo MS, Fett R. Análise do pH endógeno, da acidez e da concentração de sacarose de medicamentos pediátricos. *Rev Odontol Cienc* 2004;19(44):164-9.

Craig RG, Peyton FA. The microhardness of enamel and dentin. *J Dent Res* 1958;37(4):661-8.

Craig RG, Gehring PE, Peyton FA. Relation of structure to the microhardness of human dentin. *J Dent Res* 1959;38(3):624-30.

Cury JA, Simões GS, Del Bel Cury AA, Gonçalves NC, Tabchoury CP. Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on in situ enamel remineralization. *Caries Res* 2005;39(3):255-7.

Da Cunha WA. Avaliação in vitro da efetividade do diamino fluoreto de prata e do fluoreto de sódio na inibição da erosão dental. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade Cruzeiro do Sul; 2008.

Davis WB, Winter PJ. The effect of abrasion on enamel and dentine after exposure to dietary acid. *Br Dent J* 1980;148(11-12):253-6.

Dawes C, Boroditsky CL. Rapid and severe tooth erosion from swimming in an improperly chlorinated pool: case report. *J Can Dent Assoc* 2008;74(4):359-61.

Dawes C, Kubieniec K. The effects of prolonged gum chewing on salivary flow rate and composition. *Arch Oral Biol* 2004;49(8):665-9.

Deery C, Wagner ML, Longbottom C, Nugent ZJ. The prevalence of dental erosion in a United States and a United Kingdom sample of adolescents. *Pediatr Dent* 2000;22(6):505-10.

Downer MC. The 1993 national survey of children's dental health. *Br Dent J* 1995;178(11):407-12.

Dugmore CR, Rock WP. A multifactorial analysis of factors associated with dental erosion. *Br Dent J* 2004;196(5):283-6.

Duxbury AJ. Ecstasy: dental implications. *Br Dent J* 1993;175(1):38.

Eccles JD. Dental erosion of nonindustrial origin: a clinical survey and classification. *J Prosthet Dent* 1979;42(6):649-53.

Eccles JD. Tooth surface loss from abrasion, attrition and erosion. *Dent Update* 1982;9(7):373-81.

Edwards M, Ashwood RA, Littlewood SJ, Brocklebank LM, Fung DE. A videofluoroscopic comparison of straw and cup drinking: the potential influence on dental erosion. *Br Dent J* 1999;185(5):244-9.

Fachin LV. Estudo do pH e da capacidade tampão, e avaliação qualitativa dos efeitos das bebidas ácidas na superfície do esmalte dentário, por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade Cruzeiro do Sul; 2007.

Feagin F, Patel PR, Koulourides T, Pigman W. Study of the effect of calcium, phosphate, fluoride and hydrogen ion concentrations on the remineralization of partially demineralized human and bovine enamel surfaces. *Arch Oral Biol* 1971;16(5):535-48.

Featherstone JDB, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci* 2006;20(66):66-76.

Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;15(1):109-14.

Fejerskov O. Concepts on dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997;25(1):5-12.

Fejerskov O, Stephen KW, Richards A, Speirs R. Combined effect of systemic and topical fluoride treatments on human deciduous teeth-case studies. *Caries Res* 1987;21(5):452-9.

Fushida CE, Cury JA. Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de Coca Cola na erosão de esmalte e dentina e reversão pela saliva. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1999;31(2):127-34.

Gandara BK, Truelove EL. Diagnosis and management of dental erosion. *J Contemp Dent Pract* 1999;1(1):16-23.

Ganss C, Klimek J, Brune V, Schürmann A. Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res* 2004;38(6):561-6.

Ganss C, Klimek J, Schäffer U, Spall T. Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res* 2001;35(5):325-30.

Ganss C, Lussi A, Klimek J. Comparison of calcium/phosphorus analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosive demineralisation. *Caries Res* 2005;39(3):178-84.

Gedalia I, Dakuar A, Shapira L, Lewinstein I, Goultschin J, Rahamim E. Enamel softening with Coca-Cola and rehardening with milk or saliva. *Am J Dent* 1991;4(3):120-2.

Geurtsen W. Rapid general dental erosion by gas-chlorinated swimming pool water. Review of the literature and case report. *Am J Dent* 2000;13(6):291-3.

Giunta JL. Dental erosion resulting from chewable vitamin C tablets. *J Am Dent Assoc* 1983;107(2):253-6.

Graubart J, Gedalia I, Pisanti S. Effects of fluoride pretreatment in vitro on human teeth exposed to citrus juice. *J Dent Res* 1972;51(6):1677-80.

Grenby TH. Methods of assessing erosion and erosive potential. Eur J Oral Sci 1996;104(2):207-14.

Grenby TH, Andrews AT, Mistry M, Williams RJ. Dental caries-protective agents in milk and milk products: investigations in vitro. J Dent 2001;29(2):83-92.

Guggenheim B, Schmid R, Aeschlimann JM, Berrocal R, Neeser JR. Powdered milk micellar casein prevents oral colonization by *Streptococcus sobrinus* and dental caries in rats: a basis for the caries-protective effect of dairy products. Caries Res 1999;33(6):446-54.

Gwinnett TAJ. Structure and composition of enamel. Oper Dent 1992;5(Suppl):10-7.

Hall AF, Buchanan CA, Millett DT, Creanor SL, Strang R, Foye RH. The effect of saliva on enamel and dentine erosion. J Dent 1999;27(5):333-9.

Harding AM, Satanovisky Y, Simmelink JW. Thickness of human primary incisor enamel. J Dent Res 1996;75:196.

Harding MA, Whelton H, O'Mullane DM, Cronin M. Dental erosion in 5 year-old Irish school children and associated factors: a pilot study. Community Dent Health 2003;20(3):165-70.

Hegdahl T, Hagebo T. The load dependence in micro indentation hardness testing of enamel and dentin. Scand J Dent Res 1972;80:449-52.

Hove L, Holme B, Ogaard B, Willumsen T, Tveit AB. The protective effect of TiF_4 , SnF_2 and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured with white light interferometry. Caries Res 2006;40(5): 440-3.

Hove LH, Young A, Tveit AB. An in vitro study on the effect of TiF_4 treatment against erosion by hydrochloric acid on pellicle-covered enamel. Caries Res 2007;41(1):80-4.

Hove LH, Holme B, Young A, Tveit AB. The protective effect of TiF_4 , SnF_2 and NaF against erosion-like lesions in situ. Caries Res 2008;42(1):68-72.

Hughes JA, Jandt KD, Baker N, Parker D, Newcombe RG, Eisenburger M, et al. Further modification to soft drinks to minimise erosion. A study in situ. *Caries Res* 2002;36(1):70-4.

Hughes JA, West NX, Addy M. The protective effect of fluoride treatments against enamel erosion in vitro. *J Oral Rehabil* 2004;31(4):357-63.

Hughes JA, West NX, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink in vitro and in situ. 1. Comparison with orange juice *J Dent* 1999;27(4):285-9.

Hughes JA, West NX, Parker DM, Van den Braak MH, Addy M. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro. *J Dent* 2000;28(2):147-52.

Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M. Relative susceptibility of deciduous and permanent dental hard tissues to erosion by a low pH fruit drink in vitro. *J Dent* 2000a;28(4):265-70.

Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M. Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue in the oral environment. *J Dent* 2000b;28(4):257-63.

[IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2002-2003: análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2004. Disponível em: URL:http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002analise/pof_2002analise.pdf [2006 mar 25].

Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 2004;38(6):551-6.

Imfeld T. Dental erosion: definition, classification and links. *Eur J Oral Sci* 1996a;104(2):151-5.

Imfeld T. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. *Europ J Oral Sci* 1996b;104(2):215-20.

Itthagarun A, King NM, Yiu C, Dawes C. The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res* 2005;39(3):251-4.

Jarvinen VK, Rytömaa II, Heinonen OP. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res* 1991;70(6):942-7.

Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P. Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro. *J Dent* 2005;33(7):569-75.

Johansson AK, Johansson A, Stan V, Ohlson CG. Silicone sealers, acetic acid vapours and dental erosion: a work-related risk? *Swed Dent J* 2005;29(2):61-9.

Johansson AK, Lingstrom P, Imfeld T, Birkhed D. Influence of drinking method on tooth-surface pH in relation to dental erosion. *Eur J Oral Sci* 2004;112(6):484-9.

Johansson AK, Sorvari R, Birkhed D, Meurman JH. Dental erosion in deciduous teeth--an in vivo and in vitro study. *J Dent*. 2001;29(5):333-40.

Jones L, Lekkas D, Hunt D, McIntyre J, Rafir W. Studies on dental erosion: An in vivo-in vitro model of endogenous dental erosion-its application to testing protection by fluoride gel application. *Aust Dent J* 2002;47(4):304-8.

Kapila YL, Kashani H. Cocaine-associated rapid gingival recession and dental erosion: a case report. *J Periodontol* 1997;68(5):485-8.

Kilpatrick N, Mahoney EK. Dental erosion: part 2 - the management of dental erosion. *N Z Dent J* 2004;100(2):42-7.

Kim HD, Douglas CW. Associations between occupational health behaviors and occupational dental erosion. *J Public Health Dent* 2003;63(4):244-9.

Kleier DJ, Aragon SB, Averbach RE. Dental management of the chronic vomiting patient. *J Am Dent Assoc* 1984;108(4):618-21.

Koulourides T, Phantumvanit P, Munksgaard EC, Housch T. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. *J Oral Pathol* 1974;3(4):185-96.

Kumar VL, Itthagarun A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J* 2008;53(1):34-40.

Krutchkoff DJ, Eisenberg E, O'Brien JE, Ponzillo JJ. Cocaine-induced dental erosions. *N Engl J Med* 1990;322(6):408.

Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T. Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res* 2006;40(2):148-53.

Larsen MJ. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. *Caries Res* 2001;35(3):229-234.

Larsen MJ, Nyvad B. Enamel erosion by some soft drinks and orange juices relative to their pH, buffering effect and contents of calcium phosphate. *Caries Res* 1999;33(1):81-7.

Larsen MJ, Richards A. Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. *Caries Res* 2002;36(1):75-80.

Larsen MJ, Von der Fehr FR, Birkeland JM. Effect of fluoride on the saturation of an acetate buffer with respect to hydroxyapatite. *Arch Oral Biol* 1976;21(12):723-8.

Larsen IB, Westergaard J, Stoltze K, Larsen AL, Gyntelberg F, Holmstrup P. A clinical index for evaluating and monitoring dental erosion. *Community Dent Oral Epidemiol* 2000;28(3):211-7.

Lennon AM, Pfeffer M, Buchalla W, Becker K, Lennon S, Attin T. Effect of a casein/calcium phosphate-containing tooth cream and fluoride on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 2006;40(2):154-7.

Levitch LC, Barder JD, Shugars DA, Heyman HO. Non-carious cervical lesions. *J Dent* 1994;22(4):195-207.

Lewinstein I, Ofek L, Gedalia I. Enamel rehardening by soft cheeses. *Am J Dent* 1993;6(1):46-8.

Linkosalo E, Markkanen H. Dental erosion in relation to lactovegetarian diet. *Scand J Dent Res* 1985;93(5):436-41.

Linnett V, Seow WK. Dental erosion in children: a literature review. *Pediatr Dent* 2001;23(1):37-43.

Linnett V, Seow WK, Connor F, Shepherd R. Oral health of children with gastro-esophageal reflux disease: a controlled study. *Aust Dent J* 2002;47(2):156-62.

Lippert F, Parker DM, Jandt KD. Susceptibility of deciduous and permanent enamel to dietary acid-induced erosion studied with atomic force microscopy nanoindentation. *Eur J Oral Sci* 2004;112(1):61-6.

Luo Y, Zeng XJ, Du MQ, Bedi R. The prevalence of dental erosion in preschool children in China. *J Dent* 2005;33(2):115-21.

Luoma H, Fejerskov O, Thylstrup A. The effect of fluoride on dental plaque, tooth structure and dental caries. In: Thylstrup A, Fejerskov O: *Textbook of Cariology*. Copenhagen; Munksgaard; 1986. p.299-334.

Lussi A, Hellwig E. Erosive potential of oral care products. *Caries Res* 2001;35(Suppl 1):52-6.

Lussi A, Jaeggi T, Scharer S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res* 1993;27(5):387-93.

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res* 2004;38(1):34-44.

Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci* 2000;108(2):110-4.

Maciel RN. Perimólises. *ROBRAC* 1993;3(7):28-32.

MacPherson LM, Damato FA, Mac Farlane TW, Strang R, Stephen KW. Variations in the susceptibility of enamel to an in vitro demineralization system. *Caries Res* 1991;25(2):143-5.

Magalhães AC, Rios D, Buzalaf MAR. Influência dos fluoretos na prevenção de lesões erosivas. In: Buzalaf MAR. *Fluoretos e saúde bucal*. São Paulo: Ed Santos; 2008.p. 221-46.

Magalhães AC, Rios D, Delbem AC, Buzalaf MA, Machado MA. Influence of fluoride dentifrice on brushing abrasion of eroded human enamel: an in situ/ex vivo study. *Caries Res* 2007;41(1):77-9.

Mahoney E, Holt A, Swain M, Kilpatrick N. The hardness and modulus of elasticity of primary molar teeth: an ultra-micro-indentation study. *J Dent* 2000;28(8):589-94.

Mandel L. Dental erosion due to wine consumption. *J Am Dent Assoc* 2005;136(1):71-5.

McCracken M, O'Neal SJ. Dental erosion and aspirin headache powders: a clinical report. *J Prosthodont* 2000;9(2):95-8.

McIntyre JM. Erosion. *Aust Prosthodont J* 1992;6:17-25.

Medeiros UV, Brum SL. A proteção do esmalte por substâncias fluoretadas e os desafios cariogênicos. *Ver Assoc Paul Cir Dent* 1998;52(6):454-9.

Mendes FM. Avaliação do uso de corantes fluorescentes associados ao Diagnodent para detecção de perda mineral decorrente da cárie dentária [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

Mendes FM, de Oliveira E, de Faria DL, Nicolau J. Ability of laser fluorescence device associated with fluorescent dyes in detecting and quantifying early smooth surface caries lesions. *J Biomed Opt* 2006;11(2):024007.

Meurman JH, Frank RM. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res* 1991;25(2):81-7.

Meurman JH, Sorvari R, Pelttari A, Rytömaa I, Franssila S, Kroon L. Hospital mouth-cleaning aids may cause dental erosion. *Spec Care Dentist* 1996;16(6):247-50.

Meurman JH, ten Cate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2):199-206.

Meurman JH, Torkko H, Hirvonen J, Koskinen J, Rytömaa I. Application of a new mechanical properties microprobe to study hardness of eroded bovine enamel in vitro. *Scand J Dent Res* 1990;98(6):568-70.

Millward A, Shaw L, Harrington E, Smith AJ. Continuous monitoring of salivary flow rate and pH at the surface of the dentition following consumption of acidic beverages. *Caries Res* 1997;31(1):44–9.

Millward A, Swaw L, Smith A. Dental erosion in four year-old children from differing socioeconomic back-grounds. *ASDC J Dent Child* 1994;61(4):263-6.

Milosevic A. Eating disorders and the dentist. *Br Dent J* 1999;186(3):109-13.

Moss SJ. Dental erosion. *Int Dent J* 1998;48(6):529-39.

Navarro RS. Avaliação da perda mineral do esmalte adjacente a cavidades preparadas com laser de ER,CR:YSGG e restauradas com diferentes materiais após desafio ácido [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

Naujoks R, Schade H, Zelinka F. Chemical composition of different areas of the enamel of deciduous and permanent teeth. (The content of Ca, P, CO₂, Na and N₂). *Caries Res* 1967;1(2):137-43.

Nogueira FN, Souza DN, Nicolau J. In vitro approach to evaluate potential harmful effects of beer on teeth. *J Dent* 2000;28(4):271-6.

Nunn JH. Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2):156-61.

Nunn JH, Sharkey I, Coulthard M. The dental implications of chronic use of acidic medicines in medically compromised children. *Pharm World* 2001;23(3):118-9.

O'Brien NM. Children's Dental Health in the United Kingdom 1993. London: Office of Population Censures and Surveys; 1994.

Oginni AO, Agbakwuru EA, Ndububa DA. The prevalence of dental erosion in Nigerian patients with gastro-esophageal reflux disease. *BMC Oral Health* 2005;5(1):1-6.

Osinaga PW, Grande RH, Ballester RY, Simionato MR, Delgado Rodrigues CR, Muench A. Zinc sulfate addition to glass-ionomer-based cements: influence on

physical and antibacterial properties, zinc and fluoride release. *Dent Mater* 2003;19(3):212-7.

O'Sullivan EA, Curzon ME. Salivary factors affecting dental erosion in children. *Caries Res* 2000;34(1):82-7.

Paszynska E, Limanowska-Shaw H, Slopian A, Rajewski A. Evaluation of oral health in bulimia nervosa. *Psychiatr Pol* 2006;40(1):109-18.

Peres KG, Armênio MF, Peres MA, Traebert J, De Lacerda JT. Dental erosion in 12-year-old schoolchildren: a cross sectional study in Southern Brazil. *Int J Paediatr Dent* 2005;15(4):249-55.

Petersen PE, Gormsen C. Oral conditions among German battery factory workers. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991;19(2):104-6.

Piekarz C, Ranjitkar S, Hunt D, McIntyre J. An in vitro assessment of the role of Tooth Mousse in preventing wine erosion. *Aust Dent J* 2008;53(1):22-5 .

Pontefract H, Hughes J, Kemp K, Yates R, Newcombe RG, Addy M. The erosive effects of some mouthrinses on enamel. A study in situ. *J Clin Periodontol* 2001;28(4):319-24.

Rees J, Loyn T, Chadwick B. Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. *J Dent* 2007;35(4):355-7.

Rees J, Loyn T, McAndrew R. The acidic and erosive potential of five sports drinks. *Eur J Prosthodont Rest Dent* 2005;13(4):186-90.

Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, et al. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2008;87(4):344-8.

Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res* 2003;82(3):206-11.

Rhodus NL, Little JW. Methamphetamine abuse and "meth mouth". Pa Dent J 2008;75(1):19-29.

Rios D, Honorio HM, Magalhães AC, Buzalaf MA, Palma-Dibb RG, Machado MA, et al. Influence of toothbrushing on enamel softening and abrasive wear of eroded bovine enamel: an in situ study. Braz Oral Res 2006a;20(2):148-54.

Rios D, Honorio HM, Magalhães AC, Delbem AC, Machado MA, Silva SM, et al. Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. Caries Res 2006b;40(3):218-23.

Roberts MW, Tylenda CA. Dental aspects of anorexia and bulimia. Pediatrician 1989;16(3-4):178-84.

Rocha RO, Corrêa FNPC, Rodrigues CRMD. Microdureza superficial e transversal do esmalte de dentes decíduos [resumo PC148]. Braz Oral Res 2004;18 (Suppl):221.

Rytomaa I, Meurman JH, Franssilas S, Torkko H. Oral hygiene products may cause dental erosion. Proc Finn Dent Soc 1989;85(3):161-6.

Saunders JG, McIntyre JM. The ability of 1.23% acidulated phosphate fluoride gel to inhibit simulated endogenous erosion in tooth roots. Aust Dent J 2005;50(4):263-6.

Saxegaard E, Rølla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. Scand J Dent Res 1988;96(6):523-35.

Scheutzel P. Etiology of dental erosion: intrinsic factors. Eur J Oral Sci 1996;104(2):178-90.

Schlueter N, Ganss C, Mueller U, Klimek J. Effect of titanium tetrafluoride and sodium fluoride on erosion progression in enamel and dentine in vitro. Caries Res 2007;41(2):141-5.

Schupbach P, Neeser JR, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropeptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. J Dent Res 1996;75(10):1779-88.

Shabat E, Anaise J, Westreich V, Gedalia I. Erosion and fluoride content in molar surfaces of rats that drank a cola beverage with and without fluoride. *J Dent Res* 1975;54(2):426.

Shaw L, Smith AJ. Dental erosion-the problem and some practical solutions. *Br Dent J* 1998;186(3):115-8.

Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2001;80(12):2066-70.

Shenkin JD, Heller KE, Warren JJ, Marshall TA. Soft drinks consumption and caries risk in children and adolescents. *Gen Dent* 2003;51(1):30-6.

Smith BG, Knight JK. An index for measuring the wear of teeth. *Br Dent J* 1984;156(12):435-8.

Smith AJ, Shaw L. Comparison of rates of clearance of glucose from various sites following drinking with a glass feeder cup and straw. *Med Sci Res* 1993;21:617-9.

Sonju Clasen AB, Ofaard B, Duschner H, Ruben J, Arends J, Sonju T. Caries development in fluoridated and non-fluoridated deciduous and permanent enamel in situ examined by microradiography and confocal laser scanning microscopy. *Adv Dent Res* 1997;11(4):442-7.

Sorvari R, Meurman JH, Alakuijala P, Frank RM. Effect of fluoride varnish and solution on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 1994;28(4):227-32.

Tahmassebi JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curzon MEJ. Soft drinks and dental health. *J Dent* 2006;34(1):2-11.

Taves DR. Determination of submicromolar concentrations of F in biological samples. *Talanta* 1968;15:1015-23.

Ten Cate JM, Imfeld T. Dental erosion : summary. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2):241-4.

Tezel H, Ergücü Z, Onal B. Effects of topical fluoride agents on artificial enamel lesion formation in vitro. *Quintessence Int* 2002;33(5):347-52.

Thylstrup A, Fejerskov O. Cariologia clínica. 2 ed; São Paulo: Ed. Santos; 2001. 42p.

Ting SV, Attaway JA. Citrus fruits. In: Hulme AC, editor. The biochemistry of fruits and their products. London: Academic Press; 1971. p.107-371.

Traebert J, Moreira EAM. Transtornos alimentares de ordem comportamental e seus efeitos sobre a saúde bucal na adolescência. Pesq Odontol Bras 2001;15(4):359-63.

Tuominen ML, Tuominen RJ, Fubusa F, Mgalula N. Tooth surface loss and exposure to organic and inorganic acid fumes in workplace air. Community Dent Oral Epidemiol 1991;19(4):217-20.

van Rijkom H, Ruben J, Vieira A, Huysmans MC, Truin GJ, Mulder J. Erosion-inhibiting effect of sodium fluoride and titanium tetrafluoride treatment in vitro. Eur J Oral Sci 2003;111(3):253-7.

Vieira A, Jager DH, Ruben JL, Huysmans MC. Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. Caries Res 2007;41(1):61-7.

Vieira A, Ruben JL, Huysmans MC. Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride varnish on enamel erosion in vitro. Caries Res 2005;39(5):371-9.

Watson IB, Tulloch EN. Clinical assessment of cases of tooth surface loss. Br Dent J 1985;159(5):144-8.

Wei SHY, Soboroff DM, Wefel JS. Effects of titanium tetrafluoride on human enamel. J Dent Res 1976;55(3):426-31.

West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. J Oral Rehabil 2000;27(10):875-80.

West NX, Hughes JA, Addy M. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. J Oral Rehabil 2001;28(9):860-4.

West NX, Hughes JA, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 2. Comparison with a conventional blackcurrant juice drink and orange juice. J Dent 1999;27(5):341-4.

Wetton S, Hughes N, West N, Addy M. Exposure time of enamel and dentine to saliva for protection against erosion: a study in vitro. *Caries Res* 2006;40(3):213-7.

Whitford GM. The metabolism and toxicity of F. 2. ed. Basel: Karger; 1996.

Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions-a review. *Oral Health Prev Dent* 2003;1(4):245-53.

Wiegand A, Attin T. Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. *Occup Med* 2007;57(3):169-76.

Wiegand A, Meier W, Sutter E, Magalhães AC, Becker K, Roos M, et al. Protective Effect of Different Tetrafluorides on Erosion of Pellicle-Free and Pellicle-Covered Enamel and Dentine. *Caries Res* 2008;42(4):247-54.

Wiegand A, Muller J, Attin J. Prevalence of erosive tooth wear and associated risk factors in 2-7 year-old German Kindergarten children. *Oral Dis* 2006;12(2):117-24.

Wiktorsson AM, Zimmerman M, Angamar-Mansson B. Erosive tooth wear: prevalence and severity in Swedish winetasters. *Eur J Oral Sci* 1997;105(6):544-50.

Wongkhantee S, Patanapiradej V, Maneenut C, Tantbirojn D. Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. *J Dent* 2005;34(3):214-20.

World Health Organization. Oral Health Unit. Oral health surveys: basic methods. 2nd ed. Geneva: WHO; 1977.

Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Kurokawa H. Ultrasonic determination of the effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste on the demineralization of bovine dentin. *Caries Res* 2007;41(3):204-7.

Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent* 2006;34(3):230-6.

Zárater- Pereira P. Estudo in situ sobre a ação da própolis de *Apis mellifera* no desenvolvimento da cárie dentária e na formação do biofilme dental [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

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

Zero DT. Etiology of dental erosion: extrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2):162-77.

Zero DT, Lussi A. Erosion--chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J* 2005;55(4 Suppl 1):285-90.

Zipkin I, McClure FJ. Salivary citrate and dental erosion; procedure for determining citric acid in saliva;dental erosion and citric acid in saliva. *J Dent Res* 1949;28(6):613-26.

ANEXO A- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA****PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 105/06**

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, APROVOU o protocolo de pesquisa "Efeito da caseína fosfopeptídea – fosfato de cálcio amorfo na inibição da erosão e desmineralização", de responsabilidade da pesquisadora Fernanda Nahás Pires Corrêa, sob orientação do Professor Doutor Fausto Medeiros Mendes.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 07 de julho de 2006

Prof.Dr. Rogério Nogueira de Oliveira
Coordenador do CEP-FOUSP