UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

CHEILA NILZA HAMINA XAVIER

Avaliação *in situ* do efeito do gel contendo *euclea natalensis* na superfície dentária, antes do desafio erosivo seguido ou não da abrasão

BAURU
2011

CHEILA NILZA HAMINA XAVIER

Avaliação *in situ* do efeito do gel contendo *euclea natalensis* na superfície dentária,
antes do desafio erosivo seguido ou não da abrasão

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Saúde Coletiva.

Orientador: Profa. Dra Silvia Helena De Carvalho Sales-Peres

Versão corrigida

BAURU
2011

X9a Xavier, Cheila Nilza Hamina Xavier
 Avaliação in situ do efeito do gel contendo
 euclea natalensis na superfície dentária, antes do
 desafio erosivo seguido ou não da abrasão
 / Cheila Nilza Hamina Xavier. – Bauru, 2011.
 103 p. : il. ; 31cm.

 Dissertação Mestrado – Faculdade de
 Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo

 Orientadora: Profa. Dra. Silvia Helena de
 Carvalho Sales-Peres

Nota: A versão original desta dissertação encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP.

Autorizo , exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 010\2011
Data: 05\04\2011

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiro a DEUS e especialmente a minha família, o meu maior tesouro que deus pode me dar.

Aos meus amados filhos **Shyara e Ukay**,
Por ter perdido alguns anos da vida deles, espero que me perdoem.

Ao meu esposo,
Amigo e companheiro **Manuel**.

Aos meus pais **Helder e Joaquina**, que iluminaram os caminhos escuros com afeto e dedicação para que os trilhásse sem medo e cheia de esperança, não bastaria um muito obrigado. Nada que diga poderá expressar o meu carinho e gratidão.

Aos meus irmãos **Nelton, Kátia e Dilson**
Pelo companheirismo incondicional e amizade.

Aos meus sobrinhos, **Shelton, Ická, Njabulu, Taissa**

Aos meus cunhados **Filipe e Esmeralda**.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Estou especialmente agradecida a Profa. Dra. **SÍLVIA HELENA DE CARVALHO SALES- PERES**, orientadora do trabalho por sua corajosa decisão em me receber e aceitar ser minha orientadora no Brasil e acreditar na minha capacidade de fazer o mestrado. Pelo apoio, pela partilha do saber e as valiosas contribuições para o trabalho o meu muito obrigado. Mesmo que a palavra "obrigado" signifique tanto, não expressará por inteiro o quanto seu gesto atencioso e delicado foi importante para mim.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPQ**), Ministério da Ciência e Tecnologia (**MCT**), por me ter cedido a bolsa.

Ministério da Saúde (**MISAU**), Hospital Central de Maputo (**HCM**), por ter autorizado a minha saída para continuar com os estudos.

À **JULIANE** pela paciência e tempo e por sanar as minhas dúvidas durante as etapas nos laboratório da Bioquímica e Dentística e no CIP.

A **CRISTIANE** pela disponibilidade em ajudar com a revisão da minha dissertação.

A **ADRIANA** por ter ajudado no laboratório com a parte protésica e na formatação da dissertação. Obrigada pela paciência, amizade e pelo convívio tão agradável.

A **MARTA** amiga e colega pela ajuda pontual e nos contatos para ser recebida na FOB-USP, pela disponibilidade sempre manifestada.

Aos voluntários pela paciência e dedicação por aceitarem ser voluntários na pesquisa, vocês tiveram uma paciência infinita em seguir a complicada metodologia. **AGUEDA, LIDIANE, ZEH LUIS, BRUNO, ADELINA, PATRÍCIA, RAFA, JOANA, LUCIANA**, o meu muito "kanimambo".

AGRADECIMENTOS

A Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru através do seu do diretor Prof .Dr. **JOSÉ CARLOS PEREIRA**.

Ao Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva por me receber.

Ao Prof. Dr. **ARSÊNIO SALES PERES** pelos conselhos, recomendações e contagioso entusiasmo.

Aos professores do Departamento de Saúde coletiva **PROF. DR. JOSÉ ROBERTO DE MAGALHÃES BASTOS, PROF. DR. JOSÉ ROBERTO PEREIRA LAURIS, PROF^a. DR^a. SILVIA HELENA DE CARVALHO SALES-PERES , PROF. DR. ARSÊNIO SALES PERES , PROF. DR. HEITOR MARQUESN HONÓRIO**, pela dedicação e satisfação ao transmitirem seus conhecimentos.

As funcionárias do Departamento da Saúde Coletiva **SÍLVIA, ROSA, MARTA E TIA HELENA** pela atenção solicitude e grande amizade que demonstraram por mim.

Aos funcionários da biblioteca **CYBELLE , RITA** e do xerox **SALVADOR**, cuja orientação permanente disponibilidade de apoio permitiram trazer um manancial de informação que em muito contribuiu para execução da dissertação.

Aos colegas do mestrado do Departamento de Saúde Coletiva, pela excelente relação pessoal que criamos espero que não se perca.

A Colega **JOSILENE** por ter me ajudado no CIP com o corte dos dentes.

Aos funcionários do CIP, **RENATO E NEUSA**, sempre disponíveis a ajudar.

A ~~LARISSA~~ da bioquímica, sempre disponível por esclarecer as duvidas com o microdurômetro.

A comissão de pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo através do seu presidente **PROF. DR. PAULO CÉSAR RODRIGUES CONTI**.

A secretária de pós-graduação **MARGARETH, FÁTIMA, LEILA, LETICIA** sempre disponíveis para esclarecer duvidas, os meus sinceros agradecimentos.

A comissão do comitê de ética em pesquisa de seres humanos da FOB através do seu coordenador **PROF. DR. FLÁVIO AUGUSTO CARDOSO DE FARIA**.

A banca julgadora no exame de qualificação **PROF^a. DR^a. DANIELA RIOS, PROF. DR. ROOSEVELT DA SILVA BASTOS, PROF^a. DR^a. SILVIA HELENA DE CARVALHO SALES -PERES** pelas contribuições e orientações para melhorar o trabalho, muito obrigado.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho e tornaram este período inesquecível e me deram a certeza de que tudo valeu a pena.

“Não se acostume com o que não o faz feliz,
revolte-se quando julgar necess á rio.
Alague seu coração de esperanças,
mas não deixe que ele se afogue nelas.
Se achar que precisa voltar, volte!
Se perceber que precisa seguir, siga!
Se estiver tudo errado, comece novamente.
Se estiver tudo certo, continue.
Se sentir saudades, mate-a.
Se perder um amor, não se perca!
Se o achar, segure-o!”

FERNANDO PESSOA

RESUMO

Este estudo avaliou *in situ* a ação do gel contendo *euclea natalensis* na redução da erosão associada ou não abrasão em esmalte e dentina humanos. O estudo foi realizado em duas fases cruzadas de cinco dias cada (SG - sem gel e CG - com gel) nas quais 10 voluntários utilizaram placas palatinas com 4 blocos de esmalte e 4 blocos de dentina, distribuídos em duas fileiras horizontais contendo 4 blocos, correspondendo aos subgrupos: erosão (Eros); erosão + abrasão (30min) (Eros + Abras). Em fases alternadas metade dos voluntários teve a aplicação do gel em todos espécimes do aparelho e na outra metade os espécimes não sofreram tratamento nenhum. O gel foi aplicado durante 5 minutos, sendo o mesmo removido após este tempo. Na etapa experimental os aparelhos foram imersos em refrigerante 4x ao dia, por 5 minutos. A seguir o aparelho foi colocado na boca por 30 minutos. Após este período os voluntários escovaram 4 espécimes da fileira Eros + Abras e recolocaram o aparelho. A outra fileira (Eros) não foi escovada. A análise da perda de estrutura dentária foi realizada por meio de teste de perfilometria e microdureza. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) a 2 critérios (presença ou ausência da aplicação do gel) de acordo com cada substrato e o teste TUCKEY ($p < 0,05$). Não houve associação entre perda de dureza e condições ou grupos testados ($p > 0,05$). O desgaste dentário médio nos blocos de esmalte para o grupo CG foi de 12,86µm eros e 12,13µm eros+abras e para os blocos de dentina foi de 5,95µm eros e 6,16µm eros+abras. A média de desgaste dentário para o grupo SG, em blocos de esmalte foi de 14,08µm eros e 16,29µm eros+abras e, nos blocos de dentina foi de 13,64µm eros e 12,63µm eros+abras. Houve diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$). Concluiu-se que o gel contendo *euclea natalensis* é capaz de reduzir o desgaste associado ou não a abrasão, independente do tipo de substrato, esmalte ou dentina.

Descritores: Desgaste dos dentes; Erosão; Abrasão; Prevenção de Doenças; Naftoquinonas; *Ebenaceae*.

ABSTRACT

Evaluation *in situ* of the gel containing *natalensis euclea* effect on the tooth surface before the erosive challenge with or without abrasion

This study investigated the action of *in situ* gel containing *euclea natalensis* on reducing erosion associated or not with abrasion in the human enamel and dentin. The study was performed into two phases crossed in five days each (WOG-without gel and WG- with gel) in which ten volunteers used acrylic palatal appliances with four blocks of enamel and four dentin, distributed in two horizontal rows containing four blocks, corresponding to the subgroups: erosion (Eros); erosion + abrasion (30min) (Eros + Abras). In alternating phases half the volunteers had the applying the gel at all specimens. And the other half of the volunteers have not suffered any treatment. The gel was applied during 5 minutes, being removed after this time. In stage experimental, the blocks were subjected to erosion by immersion of the appliances into soft drink for five minutes, 4 times a day. The appliance was then replaced into the mouth for 30 minutes. After this period the volunteers brushed row (eros+abrasion) and replaced into the mouth. The row (eros) was not brushed. The analysis of the dental structure were determined using profilometry and microhardness tests. ANOVA by two criteria (presence or absence of application of gel) in agreement with each the substrate and Tukey test were applied ($p < 0.05$). Microhardness and conditions or groups tested were not found association ($p > 0.05$). The mean wear in enamel blocks was 12.86 μ m eros and 12.13 μ m eros + abras in the WG group and in dentin blocks was 5.95 μ m eros and 6.16 μ m eros+ abras. The mean wear in enamel blocks was 14.08 μ m eros and 16.29 μ m eros+abras for the WOG group and in dentin blocks was 13.64 μ m eros and 12.63 μ m eros + abras. There was significant difference between groups ($p < 0.05$). It concluded that the gel containing *Euclea Natalensis* can reduce erosion with or without abrasion, independently of the substrate type, enamel or dentin.

Keywords: Tooth Wear; Erosion; Abrasion; Disease Prevention; *Ebenaceae*, naphthoquinones.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	-	Árvore <i>euclea natalensis</i>	34
Figura 2	-	Distribuição da <i>euclea natalensis</i>	35
Figura 3	-	A forma como é usada a <i>euclea natalensis</i> .em Moçambique	36
Figura 4	-	Esquema da fase <i>in situ</i>	47
Figura 5	-	Fluxograma da obtenção do espécime	51
Figura 6	-	Microdurômetro	52
Figura 7	-	Avaliação do fluxo salivar	54
Figura 8	-	Obtensão do molde	56
Figura 9	-	Fluxograma para obtenção da placa	56
Figura 10	-	Material fornecido aos voluntários	57
Figura 11	-	Fluxograma procedimento durante o experimento aos voluntários com gel	58
Figura 12	-	Fluxograma procedimento durante o experimento aos voluntários sem gel	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Perda média de dureza superficial (%) esmalte com ou sem aplicação do gel <i>euclea natalensis</i> nas condições experimentais eros e eros+abras	63
Tabela 2	-	Perda média de dureza superficial (%) da dentina com ou sem aplicação do gel <i>euclea natalensis</i> nas condições experimentais eros e eros+abras	63
Tabela 3	-	Desgaste (μm) do esmalte (média $\pm$ dp), com ou sem aplicação do gel nas 2 condições experimentais	64
Tabela 4	-	Desgaste (μm) da dentina (média $\pm$ dp), com ou sem aplicação do gel nas 2 condições experimentais.	64

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Abras	Abrasão
ANOVA	Análise de variância
ATT	Acidez titulável
c	Constante usada na fórmula para cálculo da dureza knoop
C	Carga usada no microdurômetro
Ca	Cálcio
CNPQ	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico
CG	Com gel
CPP-ACP	Caseína Fosfapeptídeo – Amorfo, Fosfato de Cálcio
dp	Desvio padrão
D	Comprimento da diagonal maior da endentação
dd	Dentes decíduos
D	Dentina
Eros	Erosão
E	Esmalte
FOB	Faculdade de Odontologia de Bauru
AmF	Fluoreto de amina
F ₂ SO ₄	Fluoreto de sódio Sulfato ferroso
F	flúor
Fe ⁺²	Íon de ferro
g	Grama
h	Horas
HCM	Hospital Central de Maputo
<i>In situ</i> (latim)	Em sito, no local (no caso na boca)
<i>In vitro</i> (latim)	Em laboratório
L	Litro
M	Molar
mmol/L	Milimoles por litro
mg Ca/L	Miligramas de cálcio por litro
mm	Milímetros

mg/g	Miligrama por grama
MCT	Ministério da Ciência e Tecnologia
MISAU	Ministério da Saúde
µm	Micrometro
NaF	Fluoreto de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
p	Nível de significância
P	Dentição permanente
pH	Potencial hidrogênio
KHN	Valor de dureza KNOOP
SP	São Paulo
SG	Sem gel
min	Minuto
SnF ₂	Fluoreto de estanho
s	Segundos
S. Mutans	<i>Streptococcus mutans</i>
TiF ₄	Tetrafluoreto de titânio
TC	tanino condensado
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
USP	Universidade de São Paulo
%PDS	Porcentagem de perda de dureza
x/dia	Vezeas ao dia

LISTA DE SÍMBOLOS

<	Menor
>	Maior
µm	Micrômetro
%	Por cento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	Efeito erosivo das bebidas sobre as superfícies dentárias	21
2.2	Efeito sinérgico entre erosão e abrasão	24
2.3	Estudo <i>in situ</i> sobre erosão e abrasão	26
2.4	Métodos preventivos de erosão e abrasão	27
2.4.1	Ação da saliva na película adquirida	31
2.5	<i>Euclea natalensis</i>	34
3	PROPOSIÇÃO	39
4	MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1	Aspectos Éticos	45
4.2	Seleção da bebida	45
4.3	Avaliação <i>in situ</i>	45
4.3.1	Delineamento experimental	45
4.3.2	Amostra	47
4.4	Obtenção dos dentes humanos e preparo dos blocos	48
4.4.1	Obtensão dos espécimes de esmalte	48
4.4.2	Planificação e polimento dos espécimes de esmalte	49
4.4.3	Obtensão dos espécimes de dentina	50
4.4.4	Planificação dos espécimes de dentina	50
4.4.5	Avaliação da Microdureza inicial	51
4.5	Proteção da metade do espécime	53
4.6	Seleção dos voluntários	53
4.7	Avaliação do fluxo salivar estimulado	54
4.8	Preparação dos dispositivos intrabucais	54
4.9	Composição do gel <i>euclea natalensis</i>	56

4.10	Procedimento durante o experimento	57
4.11	Determinação do desgaste	59
4.12	Análise estatística	60
5	RESULTADOS.....	61
6	DISCUSSÃO	65
7	CONCLUSÕES.....	75
	REFERÊNCIAS.....	79
	APÊNDICES	95
	ANEXOS.....	101

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

As lesões cariosas foram responsáveis pela sintomatologia dolorosa dos pacientes durante muito tempo e, conseqüentemente, pela procura à assistência do cirurgião-dentista (BARBOSA et al.,2009).

Os problemas associados à perda progressiva sem o envolvimento de bactérias na estrutura dentária estão se tornando um agravo crescente para a Odontologia. Visto que a dentição natural tem sido mantida até idades mais avançadas, com exposição dos dentes a fatores etiológicos relacionados ao desgaste dentário por um período mais longo de tempo (MAROCHI ,QUEIROZ; 2004).

Tem sido observada a redução na prevalência da cárie dentária e o aumento a ocorrência de lesões não cariosas (ZERO,1996; KLIEMENN, 2002).

As lesões não cariosas também são conhecidas como desgaste dentário têm etiologia multifatorial, uma vez que a perda de estrutura dentária nessa região pode se dar devido a abrasão, abfração , atrição ou erosão ou mesmo pela associação de dois ou mais fatores (MATOS; MATSON, 1997; SCHNEIDER, 2004).

Abfração é a flexão do dente que ocorre principalmente no limite amelocementário, ocasionada por sobrecarga oclusal. Há formação de trincas na estrutura dentária, resultando no enfraquecimento por fadiga dessas estruturas devido à tensão local existente, provocando também superfícies desestruturadas e perda gradual de esmalte, dentina e cemento (LEE, 1999). As lesões por abfração surgem quando os dentes, sob forças oclusais mal dirigidas, não suportam o esforço, levando à deflexão da estrutura dentária e, em seqüência, a uma ruptura dos cristais ao nível cervical, formando a lesão. Essas lesões apresentam-se em forma de cunha, geralmente profundas e com margem bem definidas (SOBRAL et al.,1999).

A abrasão caracteriza-se pelo desgaste da estrutura dentária resultante da fricção de outros materiais contra o dente. O tipo de abrasão mais conhecido na cavidade bucal é aquele causado pela escovação, em que não só o tipo de

dentifrício e da escova, como também uma técnica inadequada e o momento da escovação (após desafio ácido) atuam como fatores agravantes. Procedimentos odontológicos de raspagem também podem ser considerados como agentes de abrasão em pacientes com recessão gengival e com superfície radicular exposta (IMFELD, 1996; HOOPER et al., 2003; FILHO; SILVA, 2008).

A atrição é um processo no qual a superfície dentária é removida a partir de forças físicas resultantes do contato entre os dentes antagonistas durante a função ou parafunção, como a mastigação normal e o bruxismo (DAVIS et al., 1980; ASHER, 1987;).

Erosão é a desmineralização do esmalte ou dentina por ácidos intrínsecos ou extrínsecos (HUYSMANS et al., 2011). Os fatores extrínsecos são dieta (frutas, bebidas ácidas) meio ambiente (indústrias químicas, piscinas cloradas) e medicamentos (vitamina C, aspirina, ácido clorídrico). Já os fatores intrínsecos são doenças que provocam regurgitação do suco gástrico ou diminuição do fluxo salivar (GRANDO et al., 1995).

Alguns autores apontam o refluxo de fluidos gástricos (NUNN et al., 2003) e as exposição aos fatores do meio ambiente, como por exemplo ácidos industriais, como fatores de risco para erosão dentária (KIM; DOUGLASS, 2003).

Os hábitos alimentares são importantes e crescentemente investigados como causas da erosão dentária principalmente alimentos e bebidas ácidas (MOYNIHAN, 2000; AL-MAJED et al., 2002; HARDING et al., 2003).

Em crianças e adolescentes, o consumo de refrigerantes é maior que em outras idades, devido ao barateamento desses produtos ocorrido nos últimos anos no Brasil e no Mundo, sendo considerado um dos importantes agentes etiológicos da erosão dentária (JENDOTTIR et al., 2004).

Em adição aos ácidos da dieta, pessoas que consomem droga, álcool, medicamentos ou são adeptas da dieta lactovegetariana podem ter um risco aumentado de sofrer erosão dentária (LUSSI et al., 2006).

Medidas de higiene oral também podem influenciar a progressão do desgaste, uma vez que as superfícies dentárias que foram expostas a ácidos ficam amolecidas

e vulneráveis a forças mecânicas como abrasão, a qual tem pouco ou nenhum efeito sobre tecidos hígidos (DAVIS; WINTER, 1998; ATTIN et al., 2000).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que aproximadamente 80% dos habitantes do mundo utilizam principalmente nos medicamentos tradicionais para prevenção e tratamento de doenças (NEWMAN; CRAGG, SNADER, 2000). Na África, este uso é largamente adotado em substituição de tratamentos alopáticos.

Os medicamentos naturais têm sido utilizados pela grande maioria dos povos africanos como a principal fonte de cuidados à saúde (CUNNINGHAM, 1993).

A *Euclea natalensis* é uma planta frequentemente usada para a manutenção da saúde bucal e mesmo em algumas patologias respiratórias pela população indígena da África do Sul (WATT BREYER-BRANDWIJK, 1962; BRYANT, 1966; VAN WYK, 1997).

As raízes da *Euclea natalensis* possuem substâncias (como as naftoquinonas) são também usadas para aliviar dores, como por exemplo, dor de cabeça e de dente, pelos indivíduos da África do Sul (PALGRAVE; DRUMMOND, 1977).

As espécies do gênero *euclea* são ricas em naftoquinonas na raiz, o que pode ajudar a justificar a sua atividade terapêutica, uma vez que estes compostos apresentam propriedades fungicidas, anti-bacterianas, inseticidas, fitotóxicas, citostáticas e anti-carcinogênicas (EVANS, 2002).

A casca da raiz é retirada e o interior dela é mastigado até ficar desfeito, sendo depois esfregado contra os dentes e as gengivas. Pode deixar a boca e os dentes com uma coloração laranja temporária desaparecendo ao fim de algumas horas. Ao final da limpeza dos dentes o pedaço desfeito é cortado e o restante da raiz é armazenado para posterior uso (STANDER, 1991).

Esta planta é muito utilizada no continente africano para o tratamento de cárie dentária e hemorragia gengival, através de suas raízes que são descascadas e, após secas, moídas em almofariz para a obtenção de um pó fino. Este pó é usado para escovar os dentes (MARTINS, 2006).

A baixa prevalência de cárie dentária nos países africanos e o aumento na expectativa de vida da população faz com que os dentes sejam mantidos por mais tempo na boca. Aumentando a vulnerabilidade destes para o desenvolvimento do desgaste dentário. Devido à grande utilização da *euclea natalensis* para higienização bucal em países e províncias do continente africano (África do Sul, Moçambique, entre outros) torna-se relevante verificar se a planta *euclea natalensis* teria algum benefício quanto prevenção e/ou controle da erosão dentária, visto que não há achados na literatura que façam essa relação, o que justifica o desenvolvimento do presente trabalho.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Efeito erosivo das bebidas sobre a superfície dentária

Muitas pesquisas tiveram como objetivo investigar a erosão dentária e verificar o efeito de bebidas ácidas sobre o dente, em quais condições isto ocorre e o papel da saliva nesse processo (SMITH, SHAW ;1997; MEURMAN, 1990;WEST et al.,1999). As bebidas mais testadas foram sucos de frutas, refrigerantes, chás e bebidas do esporte (isotônicos).

Panich, Poolthong em 2009 observaram que a bebida tipo coca-cola® diminuiu significativamente a dureza do esmalte. E a caseína fosfato de cálcio-amorfo fosfatídeo (CPP.ACP) e a saliva artificial aumentaram significativamente a dureza do esmalte erodido.

Lodi et al. (2010) tiveram como objetivo avaliar *in vitro* a capacidade erosiva de bebidas lácteas fermentadas, bem como algumas de suas propriedades que afetavam a desmineralização do esmalte dentário (pH, capacidade tampão). Os resultados mostraram que o pH baixo e a capacidade tampão alta, foram identificados no produtos analisados. Por outro lado, a presença de flúor, os íons de cálcio e de fósforo poderiam ter reduzido a dissolução da estrutura dentária.

Borjian et al. (2010) realizaram um estudo para avaliar o pH e a capacidade tampão de seis bebidas tipo cola (Pepsi Cola, Pepsi Cola light, Coca-Cola®, Coca light®, Cola Diet Seleção e Seleção) a medida de cálcio e o teor de fósforo , efeitos erosivos sobre os tecidos dentários duros após a exposição a coca-cola .Todas as bebidas testadas foram ácidas e poderiam desmineralizar a estrutura

Dentária. Estes dados forneceram mais evidências de que a dissolução química por desmineralização do dente pode ser causada pela ingestão de bebidas tipo cola. Esse estudo demonstrou que a erosão dentária pode alterar a morfologia do esmalte e da dentina.

Torres et al. (2010) avaliaram a influência de um refrigerante à base de cola e um suco de laranja à base de soja na erosão da superfície e sub-superfície do

esmalte de dente decíduo, em função do tempo de exposição. Os autores concluíram que a erosão das superfícies expostas ao refrigerante foi mais acentuada e diretamente proporcional ao tempo de exposição à bebida.

Cavalcanti et al. (2010) avaliaram o pH e a acidez titulável (ATT) de 9 bebidas isotônicas (gatorade limão, uva, morango-maracujá, tangerina, laranja, frutas cítricas, guaraná-açaí; marathon limão, marathon guaraná-açaí) à temperatura ambiente (23º) e após o resfriamento. As médias do pH variaram de 2,03 (gatorade tangerina) a 2,93 (marathon limão) e todas mostraram um pH abaixo do valor crítico de 5,5 para o esmalte. Nesse estudo, os autores concluíram que as bebidas avaliadas apresentaram baixo pH, podendo as mesmas serem consideradas potencialmente erosivas aos tecidos dentários se consumidas de modo inadequado e com elevada frequência. Com relação à temperatura, recomendaram que essas bebidas fossem ingeridas mais frias.

O potencial erosivo de alguns agentes como bebidas ácidas ou gêneros alimentícios depende de fatores químicos como pH, acidez titulável, conteúdo mineral encontrado na superfície dentária e das propriedades quelantes do cálcio (LUSSI, 2008).

Sales-Peres et al. (2007) concluíram que as cinco bebidas analisadas em seu estudo (Coca-cola®, Coca-cola® light, Guaraná, Pepsi twist, e Sprite light) causavam amolecimento da superfície do esmalte; e em relação às características químicas testadas, apesar de não ter sido estatisticamente significativo, o pH pareceu ter influência sobre o potencial erosivo das bebidas testadas.

Owens e Kitchens (2007) avaliaram o efeito da coca-cola®, bebidas desportivas e energéticas sobre a morfologia de espécimes de esmalte humano. O valor do pH, o efeito tampão, o tempo de exposição e possivelmente a temperatura foram determinantes na dissolução do esmalte. Todas as bebidas testadas (Coca-cola®, Diet coke, Gatorade e Red bull) demonstraram padrões de dissolução do esmalte por meio da microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica. Da maior alteração morfológica do espécime para a menor, encontrou-se red bull, Gatorade, coca-cola® e diet coke, sendo que a red bull e o gatorade apresentaram extensa dissolução de esmalte com subsequente exposição de dentina.

Duran, Lopez e Cotrina (2007) avaliaram o efeito erosivo de três refrigerantes (cola real, coca-cola®, Inca cola) sobre a superfície do esmalte do dente, através do desgaste dentário. Utilizaram 60 espécimes divididos em 4 grupos dos quais 3 foram expostos a bebidas carbonadas por 1 minuto. Em seguida 3 minutos em saliva artificial. O ciclo foi repetido durante 20 minutos. O grupo controle negativo foi imerso em água destilada. Uma diferença significativa foi encontrada entre os valores de microdureza inicial e final das amostras expostas aos refrigerantes. Os resultados mostraram que cola -real® apresentou efeitos erosivos semelhantes aos da coca-cola®, enquanto Inca- cola® apresentou o menor efeito erosivo.

Barbour et al. (2006) estudaram a correlação entre o amolecimento do esmalte, erosão do esmalte e influência da temperatura. Estudos do potencial erosivo de bebidas são conduzidos em temperatura ambiente ou similar a corporal, porém as bebidas são servidas em temperatura natural, com gelo ou geladas. Como a taxa das reações químicas normalmente aumenta com temperaturas maiores, é esperada erosão mais severa ocorra em temperaturas altas e reduzido em temperaturas baixas.

De acordo com Jensdottir et al. (2006) tiveram como objetivo determinar o potencial erosivo das bebidas nos três primeiros minutos de exposição (avaliando a cada 15s) e os efeitos protetores de proteínas salivares. Este estudo mostrou que o potencial erosivo depende do pH da bebida (coca-cola®, Coca-cola® light, Pepsi Cola, Coca-cola® light lemon, Pepsi Max, Pepsi Twist). O potencial erosivo foi 10 vezes maior nos refrigerantes que os sucos (Capri-Sonne Orange, Top Sun, Rynkeby).

Van Eyget et al. (2005) estudaram o efeito a curto prazo de um refrigerante (Coca-cola®) com baixo pH nas superfícies do esmalte em diferentes níveis de ingestão das bebidas ácidas aplicadas por curto período na superfície do esmalte. E relataram que mesmo em curtos períodos de imersão ocorreu redução na microdureza.

Jensdottir et al. (2004) realizaram um estudo para testar o potencial erosivo de vários refrigerantes, determinar suas propriedades, testar as possibilidades de reduzir o potencial erosivo de refrigerantes por adição de substâncias. Os autores

verificaram que várias propriedades relacionadas com os refrigerantes, tais como pH, acidez titulável, capacidade tampão, e grau de saturação em relação à hidroxiapatita, tem impacto sobre o potencial erosivo da bebida. Além disso, descobriram que refrigerantes modificados por adição de cálcio e fosfato pode ser uma medida útil para reduzir o potencial erosivo.

Clinicamente o período de tempo que os dentes são banhados por ácido é mais importante que o volume da bebida ácida consumida (WEST; HUGHES; ADDY,2000; EISEBGURGER;ADDY , 2001).

West et al. (1998) observaram que a adição de cálcio às bebidas de baixo pH diminuía o potencial erosivo das mesmas, tanto *in vitro* como *in situ*.

Sabe-se que bebidas carbonadas são frequentemente mantidas na boca até que as bolhas se dissipem, fazendo com que tenham um contato com os dentes muito maior que as bebidas não carbonadas. A habilidade de se aderirem ao esmalte está baseada em suas propriedades termodinâmicas (IRELAND; MCGUINESS, SHERRIFF, 1995).

Grando et al. (1995) analisaram sob parâmetros bioquímicos a erosão dentária sobre o esmalte de dentes decíduos humanos *in vitro*, provocada pelo suco de limão e refrigerantes do tipo cola, guaraná. Estes produtos apresentaram pH ácido 2,50; 2,60 e 3,30, respectivamente e mostraram-se potencialmente erosivos, sendo que o suco de limão causou maiores perdas de cálcio e fosfato inorgânico seguido pelo refrigerante tipo coca-cola® e pelo guaraná.

2.2 Efeito sinérgico entre erosão e abrasão

A perda substancial do tecido duro do dente pode ocorrer quando o amolecimento causado pela erosão é sucedido pelo processo abrasivo, e há evidencias que o esmalte erodido é mais susceptível a abrasão e atrição que o esmalte intacto (DAVIS et al., 1980,JAEGGI, LUSSI,1999; ATTIN et al., 2000).

Estudo realizado por Attin et al. (2001) mostrou que a resistência do esmalte e da dentina à abrasão diminuiu após a erosão, porém melhorou com o aumento do tempo da remineralização.

Vieira et al. (2007) avaliaram *in situ* o efeito do verniz fluoretado (FV) na prevenção de desgaste devido à erosão e escovação dos dentes por abrasão. Este estudo mostrou que o verniz fluoretado pode efetivamente reduzir o desgaste progressivo, devido à erosão e combinação erosão e abrasão por escovação. Abrasão da camada do verniz indica que o produto deve ser aplicado periodicamente ou aplicado em múltiplas camadas a fim de manter as superfícies dos dentes protegida de desafios erosivos.

Como o desgaste é um problema dentário reconhecido, Rios et al.(2008) realizaram um estudo *in situ/ex vivo* para avaliar a eficácia de um creme dental com alta concentração de flúor em esmalte bovino submetido à abrasão e à erosão. O estudo foi cruzado e duplo cego, realizado em 3 fases (sete dias cada) em cada fase testaram um dos dentifrícios (5000ppmF;) outro com valor de 1.100ppmF, e o placebo não F). Os resultados demonstraram que em condições *in situ/ex vivo* o dentifrício com alta concentração de flúor (5000 ppm F) não tem um efeito protetor no esmalte contra erosão e na condição erosão+abrasão.

Rochel et al.(2010) avaliaram o efeito da adição do xilitol a um dentifrício fluoretado para proteger o dente contra erosão com ou sem abrasão. Os autores observaram que a adição 10% de xilitol aumenta o efeito benéfico do dentifrício fluoretado contra erosão e abrasão do esmalte *in vitro*.

Engle et al. (2010), observaram que a erosão dentária e o dentifrício abrasivo usado durante a escovação aumentaram o desgaste na superfície do esmalte em relação ao clareamento, e o desgaste da dentina também aumentou com uso da dentifrício abrasivo.

2.3 Estudos In Situ sobre erosão e abrasão

Os modelos *in situ* buscam criar condições dentro da boca e que simulem o fenômeno em estudo (ZERO, DT, 1995). Este modelo foi desenvolvido para simular uma variedade de fenômenos que ocorrem na boca incluindo erosão, na dentina e no esmalte, causada por refrigerantes (HUGHES et al., 1999; HUNTER et al., 2000; WEST et al., 1999).

Foi realizado um estudo *in situ* por Fushida e Cury (1999), com intuito de avaliar o efeito erosivo do refrigerante coca-cola® (pH=2,29) no esmalte e na dentina e a capacidade da saliva reverter as alterações estruturais causadas por esta bebida. Em função da frequência de contato com o refrigerante, houve perda significativa de dureza do esmalte em torno de 18,7 a 27,9% e para dentina 24,6 a 32,6%. Embora a ação remineralizadora da saliva tenha reendurecido o esmalte e a dentina, a recuperação após o desafio ácido não foi total, sendo inversamente proporcional à frequência de ingestão do líquido. Os autores observaram que há perdas estruturais irreversíveis da superfície do esmalte e da dentina em função da frequência de ingestão da coca-cola®.

Hunter et al. (2000) realizaram um trabalho *in situ*, no qual avaliaram o potencial erosivo de um suco de laranja sobre o esmalte e a dentina humanos, tanto de dentes decíduos como em permanentes e se a frequência de consumo da bebida potencializava seu efeito erosivo sobre o tecido dentário. O suco causou erosão nos tecidos progressivamente com o tempo, apesar do padrão não ter sido linear na dentina. Com a duplicação da frequência do consumo, não houve duplicação da erosão (sem significância estatística). A erosão na dentina foi maior que no esmalte, tanto para dentes decíduos como permanentes. Em alta frequência (10 a 15 dias) o esmalte decíduo se mostrou mais gravemente erodido que o esmalte permanente.

Rios et al. (2006) avaliaram o amolecimento superficial e o desgaste por abrasão do esmalte bovino erodido com ou sem a influência da escovação. Cinco voluntários participaram deste estudo *in situ* de 5 dias. Eles usaram placa palatina contendo 6 blocos de esmalte bovino divididos em duas fileiras com 3 blocos, o que correspondeu ao estudo grupos: erosão sem escovação dentária (GI) e erosão seguida de escovação dentária (GII). Os blocos foram submetidos à erosão por

imersão do aparelho em uma bebida de coca-cola® por 10 minutos, 4 vezes ao dia. Em seguida, o aparelho foi recolocado na boca. Alterações do esmalte foram determinadas por teste de perfilometria e microdureza. Concluiu-se que o desgaste foi mais pronunciado quando a erosão foi associada à abrasão pela escovação.

Segundo Sales Peres et al. (2007) avaliaram o efeito do bochecho com solução de sulfato de ferro (FeSO_4) a 10mmol/L na redução do desgaste e perda de dureza superficial em blocos de esmalte e dentina submetidos a desafio erosivo e abrasivo *in situ/ex vivo*. Microdureza de superfície e desgaste (perfilometria) do esmalte e dentina foram medidos. A solução testada reduziu significativamente a perda da dureza superficial em esmalte e o desgaste em dentina.

Outro estudo *in situ* observou que o Ferro a 10 mmol/L adicionado à Coca-cola® reduziu o potencial erosivo tanto em esmalte como dentina em dentes bovinos, sendo o efeito protetor mais pronunciado na dentina (KATO et al., 2007).

Kato et al. (2009) avaliaram o efeito protetor do chá verde na erosão e abrasão da dentina. Dez voluntários utilizaram dispositivos palatinos intraorais com amostra de dentina bovina submetida a (eros e eros+abras) , a abrasão ocorreu imediatamente e a erosão 30 min depois. Em duas fases durante cinco dias os voluntários foram orientados a lavar os dispositivos intraorais com chá verde ou água (1min) entre cada desafio erosivo (5min) seguido do desafio abrasivo (30s escovação). O desgaste da dentina foi medido pela perfilometria, sendo que os resultados mostraram que o chá verde diminuiu significativamente o desgaste da dentina para todas as condições avaliadas.

2.4 Métodos preventivos da erosão e abrasão

Entre os métodos preventivos para erosão e/ou abrasão, pode-se relacionar a educação dos pacientes quanto ao efeito nocivo e o consumo abusivo dos refrigerantes (CHENG et al.,2009). Sugeriram ainda a limitação do consumo de refrigerantes; preferência por aqueles com menor potencial erosivo; higiene bucal no mínimo duas vezes por dia, evitando a escovação dos dentes por um período de até

1 hora após a ingestão de alimentos ácidos; utilização de fluoretos ou creme dental remineralizante.

Murakami et al. (2009) investigaram o efeito de um verniz de flúor e um gel contendo flúor sobre a prevenção da erosão na dentição decídua e permanente. Os autores observaram que o gel foi capaz de inibir a perda de esmalte, principalmente nos grupos de dentes permanentes. As dentições decídua e permanente reagiram de forma diferente, sendo que ambas sofreram desmineralização por uma bebida de cola e remineralização por compostos fluoretados.

Wiegand et al. (2009) fizeram um estudo que comparava os efeitos de 0,5% e 1% de fluoreto de sódio, fluoreto de amina e fluoreto de estanho em diferentes pH na dentina e no esmalte, *in vitro*. Os blocos de esmalte foram submetidos a ciclos des-remineralização durante 3 dias (sendo que em cada dia foram realizados 6 ciclos compostos por 1h na saliva artificial e 90s no ácido hidrocloreídrico -pH 2,6). Em cada dia antes de iniciar os ciclos de des-remineralização os blocos ficavam armazenados em saliva artificial por 120min e em seguida aplicado às soluções testadas por 3min. As soluções testadas foram: fluoreto de amina (0,5% AmF e 1% F) com pH 3,9, fluoreto de sódio (0,5% NaF e 1% F) com pH 7,0 e fluoreto de estanho (0,5% SnF₂ e 1% F) com pH 3,9 e um grupo controle sem flúor. De acordo com os resultados, as soluções de (0,5% SnF₂ e 1% F), (0,5% AmF e 1% F) foram capazes de reduzir a erosão e a perda de esmalte, enquanto as outras soluções não diferiram significativamente em relação ao grupo controle.

Magalhães et al. (2009) avaliaram o efeito da solução de tetrafluoreto de titânio (TiF₄) sobre a erosão do esmalte humano nas dentições permanente e decídua. Concluíram que a solução de (TiF₄) a 4% foi capaz de reduzir o amolecimento do esmalte permanente causado pelo desafio erosivo *in situ*.

Hove et al. (2008) compararam o efeito da proteção do Fluoreto de titânio (TiF₄), Fluoreto de estanho (SnF₂) e Fluoreto de sódio (NaF) sobre o desenvolvimento lesões de erosão em esmalte humano. O SnF₂ ou TiF₄ podem ser considerados como um método promissor na prevenção da perda da substância dentária.

Vieira, Ruben, Huysmans em (2005), avaliaram o efeito preventivo de géis 1% e 4% tetrafluoreto de titânio (TiF_4), fluoreto de amina (AmF) 1% e 0,25% e um verniz de flúor (PF) sobre a erosão. Observaram que aplicações tópicas de verniz de flúor podem ter efeito protetor sobre a erosão dentária

Simpson, Shaw e Smith (2001) observaram que o chá preto pode ser recomendado como substituto de bebidas ácidas na prevenção de erosão dentária, pois é uma bebida muito consumida gelada pelos americanos.

Parry et al. (2001), comprovaram que a indicação de água mineral com ou sem gás, como substituta de refrigerantes, pode ser utilizada como uma alternativa segura na prevenção da erosão dentária.

O efeito inibitório de íons metálicos na desmineralização ácida tem sido investigado (MIGUEL et al., 1997). Brookes et al. (2004) realizaram um estudo para caracterizar o Fe^{+2} em relação a sua habilidade em inibir diretamente a desmineralização ácida em um sistema abiótico. Soluções de 10mmol/L de ácido acético sozinho ou contendo 10mmol/L CuSO_4 e FeSO_4 foram adicionadas a hidroxiapatita sintética (1mL/mg). As amostras foram agitadas por 30s separadas pela centrifugação. A dissolução da hidroxiapatita foi determinada pela medida espectroscópica do fosfato liberado no sobrenadante. Os resultados demonstraram que a dissolução de hidroxiapatita na presença de FeSO_4 e CuSO_4 foi 75% e 51% menor respetivamente. A inibição observada foi significativa em ambos os casos ($p < 0,05$). Em outro experimento o Fe^{+2} ainda foi capaz de reduzir a perda mineral (hidroxiapatita sintética) em 10% quando presente em uma solução a 1,24mmol/L. Os resultados indicaram que o Fe^{+2} foi capaz de inibir a desmineralização afetando a dissolução química mineral diretamente e sua efetividade foi aproximadamente 2 vezes mais que o Cu^{+2} .

Kato, Sales-Peres, Buzalaf (2007) objetivaram no seu estudo avaliar, *in vitro*, o efeito do íon de ferro (Fe) sobre a desmineralização de blocos de esmalte bovino em refrigerantes. Concluíram que a utilização de Fe^{+2} a 10 mmol/L reduziu significativamente a microdureza dos blocos de esmalte submetidos à erosão por coca-cola®.

Bueno, Marsicano, Sales-Peres, (2009) verificaram que o ferro foi capaz de interferir na dissolução do esmalte quando usado na forma de gel associado ou não ao flúor aumentando a resistência do esmalte em relação às bebidas ácidas a fim de prevenir a erosão dentária.

Sales-Peres, Pessan, Buzalaf em (2007) realizaram um estudo *in situ/ex vivo* para avaliar se o bochecho com uma solução de ferro poderia reduzir o desgaste e a perda de dureza do esmalte e da dentina humana submetidos à erosão seguido de abrasão após 30 min. O esmalte apresentou maior desgaste que a dentina, sob todas as condições experimentais. A solução de ferro causou uma redução significativa na microdureza em esmalte e uma significativa redução do desgaste em dentina, independentemente das condições. Concluiu-se que o bochecho contendo ferro pode ser uma alternativa viável para reduzir a perda de estrutura dentária, após desafio erosivo, seguido ou não por abrasão.

Em 2010, Italiani avaliou o efeito do íon de ferro (Fe^{+2}) associado ou não ao íon flúor (F) na redução da erosão do esmalte e dentina bovina. Os resultados demonstraram que os blocos que receberam o dentifrício contendo Fe^{2+} e F apresentaram valores de desgaste significativamente menores quando comparados aos blocos submetidos a outros dentifrícios, os quais não diferiram significativamente entre si.

É sabido que alguns sais metálicos podem inibir a ação das metaloproteinases, mas existe pouca informação em relação ao íon ferro por isso Kato et al. (2010) tiveram como objetivo testar *in vitro* o efeito do FeSO_4 e o MMP-2 e MMP-9 e o efeito do gel de FeSO_4 na erosão da dentina. Observaram que o uso do gel de ferro pode ser uma alternativa na prevenção da erosão dentária.

2.4.1 Ação da saliva na película adquirida

A saliva é um veículo importante na prevenção da erosão devido aos seus componentes e propriedades, como a presença de cálcio e fosfato, poder de diluição e limpeza dos produtos ácidos (HALL et al., 1999).

A manutenção da concentração fisiológica de íon de hidrogênio (pH) na superfície das células epiteliais da mucosa e na superfície dos dentes é uma importante função dos tampões salivares (CARRANZA ;BULKACZ, 1997).

Muitas pesquisas têm objetivo de investigar a erosão dentária e descobrir qual o efeito das bebidas ácidas sobre o dente, em quais condições isto ocorre e se a saliva tem influência no processo (WEST et al., 2001).

Os aspectos salivares mais estudados são fluxo salivar não estimulado, sendo que os indivíduos mais susceptíveis ao processo erosivo são aqueles que apresentam redução de fluxo (AL DLAIGAN; SHAW ; SMITH , 2001).

A saliva é basicamente formada por água (99%), sais minerais, proteínas e lipídios. Os componentes minerais mais importantes e que estão mais relacionados ao processo de erosão são o bicarbonato, fósforo, cálcio e flúor. A saliva atua diluindo e removendo os agentes potencialmente desmineralizantes por meio da ação do fluxo salivar, neutralização dos ácidos provenientes das mais diversas origens, sendo que o bicarbonato do fosfato e algumas proteínas da saliva conseguem manter o pH bucal em nível fisiológico (pH=7). Além disso, fornece cálcio, fósforo e flúor que atuam na remineralização e formam a película adquirida por meio da absorção das proteínas salivares (JOHNASSEN, 2002;FILHO,SILVA , 2008).

Jensdottir et al. (2005), tiveram como objetivo determinar os efeitos salivares ao ingerir doces ácidos *in vivo*, em relação à taxa salivar e capacidade tampão. Concluíram que a sucção de doces ácidos induz a mudanças na composição da saliva que podem ter potencial erosivo. E o fluxo salivar regular tem grandes capacidades de provocar um efeito protetor contra as alterações provocadas causadas pelos ácidos.

A presença da película salivar ou o pré-tratamento com a saliva protege a dentina e o esmalte contra a erosão ácida (WETTON et al.,2006).

Rios et al. (2006) avaliaram *in situ* o uso de chicletes para diminuir o efeito da erosão, associada ou não à abrasão. O estudo foi realizado em duas fases de 7 dias (A-sem chicletes; B- com chicletes) em que 9 voluntários utilizaram placas palatinas com 12 blocos (n=6 humanos, n=6 bovinos) distribuídos em três fileiras horizontais contendo quatro blocos, correspondendo aos grupos : erosão por refrigerante tipo cola (EROS), erosão+abrasão imediata (JA) e erosão+abrasão mediata após 1 hora(1H).Em ambas fases 4x \dia o aparelho foi imerso na bebida (150ml) por 5 min. Na fileira EROS nada foi feito, na fileira (JÁ) realizou-se a escovação imediata com dentifrício fluoretado(15 movimentos). O aparelho foi recolocado na boca na fase A permaneceu sob ação do fluxo salivar normal e na fase B os voluntários mastigaram chicletes sem sacarose por 30 min. Após 1h da imersão em cada fase foi realizada a escovação mediata (1h). Foram analisados o desgaste (perfilometria) e a perda de dureza superficial (microdureza superficial). A estimulação salivar pelo chiclete reduziu desgaste.

Hara et al. (2008) demonstraram que a saliva pode afetar a o ciclo erosão-abrasão dentária, reduzindo a desmineralização, aumentando a remineralização e agindo como lubrificante. Este estudo testou o efeito da saliva humana em um modelo cíclico de erosão-abrasão projetado para esmalte e dentina radicular. Como resultado, foi verificada que a saliva é um fator importante a ser considerado na erosão e abrasão em modelos *in vitro*. A saliva artificial mostrou resultados semelhantes aos da saliva humana e, portanto, um substituto adequado para os ciclos de erosão-abrasão estudados.

Piangprach , Hengtrakool e Kukiattrakoon em 2009, afirmaram que a saliva estimulada e a não estimulada fornecem alguma proteção contra erosão dentária, entretanto este efeito protetor depende da gravidade da erosão, da superfície afetada do dente e da idade da pessoa.

A película adquirida pode ser considerada como uma barreira natural de proteção contra o desafio erosivo. Amaechi et al. (1999) realizaram um estudo tendo como objetivo determinar a espessura da película adquirida dentro dos arcos

dentários, analisar a correlação possível desta espessura à distribuição e severidade da erosão dentro dos arcos e confirmar o efeito protetor da película frente a erosão dentária. Foram produzidos 40 blocos de esmalte a partir de 5 incisivos bovinos e distribuídos em cinco voluntários. Cada bloco foi dividido em 2 lados produzindo um lado de controle(protegido) e um experimental. A película formou-se nos blocos experimentais em locais intraorais após 1 hora da exposição. Os blocos foram analisados e a espessura da película foi medida pela microscopia eletrônica de varredura. As lesões erodidas do esmalte foram provocadas pelo suco de laranja puro. Diferenças significativas na erosão foram observadas entre os blocos com e sem película. O estudo demonstrou que a espessura da película adquirida varia dentro dos arcos dentários, que pode ser responsável pelo local específico da erosão e a película protege os dentes do desafio erosivo.

A película adquirida previne a erosão dentária, mas o nível de proteção é controverso. Num estudo *in situ* foi testada a provável proteção da película por duas horas contra diferentes desafios erosivos pelo suco de laranja. Foi permitida ou não (controle) a formação da película nas superfícies de espécimes de esmalte e dentina intra oral por 2 horas antes do desafio erosivo de 0, 10, 20 e 30 minutos de duração. Os espécimes de esmalte com película mostraram %PDS significativamente menor, somente depois de 10 minutos de desafio erosivo. Nenhuma proteção foi encontrada para dentina. Concluíram que a aquisição de película adquirida reduziu a erosão dentária, entretanto este efeito foi limitado para desafios mais severos no esmalte (HARA et al., 2006).

Hanning et al. (2009) investigaram *in situ* alterações ultra estruturais e propriedades de proteção da película adquirida durante o consumo de bebidas ácidas. Concluíram que durante o consumo de bebidas o efeito erosivo sobre o esmalte recoberto pela película adquirida é moderado.

Numerosas proteínas que compõem a película adquirida têm várias funções dentro da camada delgada que constitui essa barreira. Por essa razão, Cheaib e Lussi (2011) investigaram o efeito da incorporação da mucina e da caseína na película adquirida, para inibir o potencial erosivo no esmalte. Condições cíclicas foram aplicadas para simular o ambiente erosivo presente na interface do esmalte dentário durante o consumo de refrigerantes. Os autores observaram por meio da

microdureza que a mistura da caseína e mucina melhorou significativamente as propriedades inibidoras da erosão da camada de película humana. Nos grupos onde mucina e caseína atuaram separadamente, não foi significativo o efeito protetor. Acrescentaram ainda que, a associação entre proteína-proteína pode exercer um importante papel na prevenção da erosão em esmalte.

2.5 *Euclea natalensis*

E. natalensis é uma árvore da família *Ebenaceae*, distribuída nos trópicos da África subtropical e é comum na costa leste da África do Sul. Esta espécie caracteriza-se por arbustos ou pequenas árvores de 0,5-18 m de altura com folhagem verde muito escuro (Figura1). São vários os nomes atribuídos a *E. natalensis*, dependendo da zona geográfica e do povo/língua em questão. Em Moçambique é conhecida como: mulala (mais utilizado), kitana, mcriparipa, uchangula (DA SILVA, 2004).

Fonte: Disponível em www.plantzafrica.com/plantfg/eucleanatal.htm. Acessado em 9/09/2011

Figura 1- Árvore *Euclea natalensis*

Na língua inglesa é conhecida por: *hairy guarri* (LOFFLER, 2005), *large-leaved guarri*, *Natal guarri* (HUTCHINGS, 1996; SETSHOGO, 2003).

No caso da comunidade Zanzibar da África do Sul (arredores da cidade de Durban, província de Kwazulu-Natal) o hábito de lavar os dentes usando esta raiz é praticado uma vez por dia, de manhã, depois do café da manhã, pelas mulheres casadas (LALL, 2000).

Fonte: Adaptado de Palgrave 1983, trees of Southern África

Figura 2. Distribuição da *E. natalensis* em uma grande variedade de habitats desde zonas costeiras até florestas, a altitudes superiores a 1000m.

A higienização dos dentes é realizada com a raiz de *E. natalensis* por vários povos africanos, sendo a principal planta usada para esse fim em Moçambique (MANGUE, 1999).

Em Moçambique, a *E. natalensis* é mais abundante no distrito de Matutuíne. Há muita procura pelas raízes da *Euclea* para higiene bucal, mas pouca divulgação sobre a proteção da espécie.

Figura 3- A forma como ela é usada em Moçambique

Um estudo conduzido por Homer et al. (1990) teve por objetivo investigar a capacidade da *euclea natalensis* em inibir cepas de *porphyromonas gingivalis*, *prevotella intermedia* e *treponema denticola*. Os resultados demonstraram que o extrato aquoso a partir da planta *euclea natalensis* foi capaz de inibir em 50% a atividade microbiana. Esses achados sugerem que os gravetos da planta *euclea natalensis* utilizados na mastigação possuem componentes com ação inibitória suficiente para interferir na virulência e crescimento de bactérias periodonto patogênicas *in vivo*, desde que sejam capazes de penetrar nos sítios subgengivais de tais bactérias.

Outro estudo foi conduzido para verificar a ação de planta *euclea natalensis* no biofilme dentário, doença periodontal e cárie dentária. Foram avaliadas 72 mulheres casadas, divididas em 2 grupos, as usuárias e as não-usuárias da *E. natalensis*. Os grupos foram questionados em relação a idade, hábitos bucais como fumar e mascar tabaco e foram avaliados quanto ao índice de placa, índice periodontal e CPOD. As raízes foram submetidas a um teste contra *streptococcus mutans*, microrganismos presentes na saliva e nas bolsas periodontais. Como resultado, houve uma supressão do crescimento das bactérias, tanto aeróbicas como anaeróbicas, em todos os períodos. Porém não houve significância entre as

usuárias e não usuárias da *euclea natalensis* em relação às variáveis como placa dentária, índice periodontal, CPOD e o estado da mucosa bucal (STANDER e VAN WYK, 1991).

Um estudo prévio conduzido por Ionta et al. (2011) teve por objetivo avaliar o efeito preventivo de géis da *euclea natalensis* com ou sem flúor sobre espécimes de dentina bovina submetidos à erosão, *in vitro*. Foram utilizados 60 blocos de dentina bovina (4X4 mm) padronizados pela microdureza superficial e divididos em 3 grupos, de acordo com o tratamento: C (controle negativo, gel base) ; F (controle positivo, gel de fluoreto de sódio); Mu (gel com extrato da *euclea natalensis*) e F+Mu (gel fluoretado+ *euclea natalensis*). Os géis com *euclea natalensis* com ou sem flúor permitiram menor perda de estrutura dentária frente ao desafio erosivo. Portanto, o uso do gel contendo a *euclea natalensis* foi indicado para a prevenção da erosão dentária.

Brianezzi et al. (2011) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o potencial de um gel contendo *euclea natalensis* na redução da permeabilidade dentinária, *in vitro*. Foram testados 3 géis: G1 (extrato de *euclea natalensis*), G2 (flúor fosfato acidulado 1,23%) e G3 (controle-gel base). O gel contendo *euclea natalensis* reduziu significativamente a permeabilidade quando comparado aos outros dois géis testados. Os autores concluíram que o gel de *euclea natalensis* pode atuar de forma preventiva na redução de sensibilidade dentinária, *in vitro*.

3 Proposição

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do gel de *Euclea Natalensis* em substratos de esmalte e de dentina humanos submetidos ao desafio erosivo seguido ou não de abrasão, *in situ*.

4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspetos éticos

Este projeto foi iniciado após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB-USP) processo nº10/2011. Os voluntários só participaram da pesquisa, após explicação minuciosa de seus objetivos a partir da leitura da Carta de esclarecimento e assinatura do Termo de consentimento Livre e Esclarecido.

4.2 Seleção da Bebida

A bebida utilizada neste estudo foi a coca-cola® que é mais consumida e capaz de causar a erosão no substrato dentário (LUSSI et al.,1993, MAIA et al.,1996; WEST et al.,2001; LUSI et al.,2004).

4.3 Avaliação *in situ*

4.3.1 Delineamento experimental

Após a seleção da bebida iniciou-se a etapa experimental *in situ/ex vivo*, na qual foram utilizados blocos de esmalte e de dentina obtidos a partir de dentes humanos, que foram polidos e selecionados pela média inicial da microdureza de superfície.

Este trabalho foi do tipo cruzado e cego, envolvendo um desenho aleatorizado em blocos por voluntários, sendo realizada em dois períodos experimentais de 5 dias , onde 10 voluntários foram divididos em dois grupos, e utilizaram dispositivos intrabucais palatinos contendo 8 espécimes, sendo 4 de dentina e 4 de esmalte. Foram estudadas condições, com gel contendo *euclea natalensis* e sem gel; 2

substratos dentários: esmalte e dentina, e 2 condições erosão (5min) e erosão associada a abrasão(30 min).

Deste modo foram estabelecidos 2 grupos experimentais (com aplicação de gel CG; e sem aplicação de gel SG), dois subgrupos (esmalte e dentina) e 2 condições experimentais (Eros e Eros+Abras).

Foram utilizados 80 espécimes de fragmentos de esmalte e 80 de dentina de dentes humanos e foram aleatoriamente divididos entre 10 voluntários. Assim para cada grupo foram utilizadas 2 fragmentos de esmalte e 2 de dentina humanos por voluntário totalizando 40 fragmentos de cada tipo de substrato (RIOS,2004; SALES-PERES, 2005).

Em fases alternadas entre os voluntários, metade aplicou o gel em todos os espécimes e a outra metade não aplicou em nenhum. A aplicação do gel foi durante 5 minutos, sendo o mesmo removido após este tempo. Em horários pré-estabelecidos (10h, 13h, 16h, 19h) os voluntários emergiram o aparelho em 150ml de Coca-cola® contida em um copo previamente calibrado com o volume exato, durante 5 minutos. Os aparelhos foram imersos 4x ao dia, por 5 minutos em Coca-cola®. O aparelho foi colocado na boca por 30 minutos com ou sem o gel dependendo da fase. Em seguida os voluntários escovaram com dentifrício fluoretado espécimes da fileira do grupo Eros + Abras e recolocaram o aparelho. A outra fileira (Eros) não foi escovada. Estes procedimentos foram repetidos 4x ao dia. Cada período experimental foi realizado durante 5 dias com intervalo de 7 dias de descanso entre as etapas. Deu-se sequência ao delineamento cruzado do estudo, sendo que os voluntários nos quais haviam usado aparelho com espécime tratado com gel *euclea natalensis* no 1º período, não realizaram nenhuma aplicação da *euclea natalensis* no 2º período e vice versa. Foi feita análise do desgaste por meio de testes de perfilometria.

Figura -4 Esquema da fase *in situ*

4.3.2. Amostra

Em relação ao número de voluntários para um estudo *in situ* não existe uma regra rígida (ZERO,1995). Com base em um estudo piloto, considerou-se o número de voluntários de acordo com as análises a serem adotadas no presente estudo,

perfilometria e microdureza. No cálculo da amostra para perfilometria adotando-se um erro α de 5% e um erro β de 20%, sendo identificada a necessidade de 4 voluntários (dp=1,79). Já para microdureza, quando se adotou os mesmos referenciais a amostra passou para 9 voluntários (dp=11,58), para as 4 condições analisadas. Entretanto, para que cada fase contasse com participação de 5 voluntários em cada grupo, totalizou-se 10 participantes (SALES-PERES et al., 2007; KATO et al., 2009).

Os voluntários foram divididos aleatoriamente em 2 grupos (SG, CG). Utilizaram um dispositivo palatino durante os 2 períodos experimentais cruzados:

- Voluntários ímpares (1,3,5,7,9,)
- Voluntários pares (2,4,6,8,10)

O dispositivo palatino foi dividido 2 em fileiras horizontais, sendo que a primeira fileira os blocos (2 =esmalte e 2=dentina) só foram submetidos à erosão, a segunda fileira erosão mais abrasão após 30min. Os voluntários receberam as devidas informações e explicações sobre as tarefas a serem cumpridas durante os 2 períodos experimentais após os esclarecimentos necessários, e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido para que a fase experimental tivesse início.

4.4. Obtenção dos dentes humanos e preparo dos blocos

4.4.1 Obtenção dos espécimes de esmalte

Utilizaram-se cerca de 40 dentes humanos extraídos (3º molares) livres de cárie, que foram cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

Os dentes foram esterilizados com solução tamponada de timol a 0,2% em pH igual a 7,0 sob a temperatura ambiente por no mínimo 30 dias (Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo), e submetidos à análise visual para a averiguação de possíveis trincas e rachaduras, situação na qual foram excluídos da amostra. Na sequência as coroas foram

separadas das raízes, utilizando um disco diamantado diaflex (Extec Corporation, USA). A placa foi aparafusada em um aparelho de corte de precisão (ISOMET 1000 saw (buhler Ltd. Usa).

As coroas foram fixadas em uma placa de acrílico 40mm X 40mm X 5mm, utilizando godiva termo ativada (Kerr Corporation, USA). As coroas foram seccionadas no sentido mésio-distal, com dois discos diamantados dupla face (Extec Corporation, USA) com um espaçador de 4mm entre eles, posicionados ligeiramente acima do limite cervical e outro na coroa, desta forma obteve-se uma fatia de dente da porção coronária numa seção transversal. (RIOS, 2004; SALES-PERES, 2005).

4.4.2 Planificação e polimento dos espécimes de esmalte

Os blocos de esmalte humano a que foram obtidos tinham formatos e medidas semelhantes. Os blocos foram submetidos a uma planificação. E para tal fixados com cera pegajosa (kota ind e com Ltda, São Paulo, SP, Brasil) em discos de acrílico de 30mm de diâmetro por 8mm de espessura com a superfície do esmalte voltada para baixo. A dentina foi planificada na politriz metalográfica com um sistema múltiplo (APL 4, arotec. Cotia, SP) apartir do uso de uma lixa de silicone de granulação 320 (extec) durante um período de 15 segundos. Os blocos retirados da placa e limpos com xilol (pharmacia especifica de manipulação de fórmulas de Bauru) para remover resíduos de cera. Os blocos novamente foram fixados, mas com superfície do esmalte exposta. Utilizaram-se lixas de silicone de granulação 600 e 1200 em alta velocidade até a superfície apresentar aspecto vítreo. Entre as trocas de lixas, os discos contendo os blocos foram lavados em ultra-som T7 thornton, durante 5 minutos, em 200ml de água deionizada, a fim de impedir interferência dos abrasivos na qualidade do polimento a ser obtido.

Para o polimento final, utilizou-se um disco de feltro (extec. corp) humedecido em solução de diamante 1µm (buehler) durante 1 min. Após o último polimento, os blocos retornaram ao ultrassom durante 10 minutos. Em seguida o bloco foi protegido pela diagonal dos blocos por esmalte cosmético de unha (controle) com a finalidade de possibilitar a análise perfilométrica. Os blocos foram armazenados em suas placas de acrílico na geladeira e cobertos por gaze humedecida em água deionizada até sua utilização.

4.4.3. Obtenção dos espécimes de dentina

Na sequência as coroas foram separadas das raízes, utilizando um disco diamantado diaflex (Extec Corporation, USA) A placa foi aparafusada em um aparelho de corte de precisão (ISOMET 1000 saw (buhler Ltd. Usa).

A parte radicular foi fixada com godiva termo ativada (Kerr Corporation, USA) em uma placa de acrílico 40mm X 40mm X 5mm, em seguida, seccionados no sentido mésio-distal, com dois discos diamantados dupla face (Extec Corporation, USA) com um espaçador de 4mm entre eles, posicionando-se um disco ligeiramente acima do limite cervical e outro na raiz, desta forma obterá uma fatia de dente da porção radicular numa seção transversal (RIOS, 2004;SALES-PERES, 2005).

4.4.4 Planificação e polimento dos espécimes de dentina

Após a obtenção dos espécimes coronários, foi utilizada a porção radicular do elemento dentário para obtenção do fragmento de dentina. Ajustes necessários foram realizados para tornar a dentina paralela á superfície da placa de acrílico, onde foram feitas as avaliações no microdurômetro. Na politriz giratória utilizou-se uma lixa de granulação 320 em baixa rotação sob refrigeração com 1 peso padrão (86g) durante 15 segundos, para planificar a superfície dentária oposta á dentina que seria avaliada. A espessura dos blocos foi analisada por meio de uma escala milimétrica para ficar aproximadamente com 2mm. Os blocos foram fixados com godiva termo ativado em uma placa de acrílico pré-fabricada (40mmx40mmx5mm) com superfície de dentina voltada para o acrílico para planificação. Após a planificação e o ajuste da superfície dentária, o bloco foi removido da placa de acrílico e a godiva foi totalmente removida, e os blocos foram limpos com xilol (merk, Darmstadt, germany). Para se obter o aspecto vítreo da superfície dentária a ser testada, foram utilizadas lixas de granulação 600 a 1200 (extrec. Corp.), seguindo o mesmo protocolo da planificação do esmalte até o polimento final. Em seguida uma parte dos blocos de dentina e de esmalte dentário foi protegida por esmalte cosmético para unha (controle), com a finalidade de possibilitar a análise perfilométrica. Seguiu-se o mesmo protocolo de armazenamento empregado para todos os blocos de esmalte.

Figura 5 -fluxograma de obtenção de espécime

4.4.5 Avaliação da microdureza de superfície inicial

A microdureza superficial inicial foi avaliada utilizando-se um microdurômetro (HMV-2000/Shimadzu Corporation, Japan) acoplado a um microcomputador e um software específico para a análise de imagens (Cams-WIN-New Age Industries/USA). Utilizou-se um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP, com carga estática de 25g, aplicada por 10 segundos para dentina e para esmalte.

Em cada bloco de esmalte e de dentina realizou-se 5 endentações, aleatoriamente. As endentações realizadas foram medidas através de duas marcas pontilhadas, confeccionadas pelo software utilizado que apareceram na tela do computador, que eram sobrepostas aos vértices agudos do losango correspondente a endentação, assim determinando o comprimento da maior diagonal e, conseqüentemente os resultados da dureza KNOOP através do cálculo automático feito pelo software da seguinte equação (RIOS, 2004):

$$\text{KHN} = \frac{C \cdot c}{d^2}$$

Sendo:

- ✓ KHN = valor de dureza KNOOP
- ✓ C (constante) = 14,230
- ✓ Carga = 25 gramas (dentina) ou 50g (esmalte)
- ✓ d = comprimento da maior diagonal da endentação

A média do comprimento da diagonal maior das cinco endentações foi utilizada para excluir fragmentos com microdureza fora do padrão. Foram desprezados os fragmentos com um valor médio de microdureza 5% acima ou 5% abaixo da média de todos os fragmentos e, aqueles com desvio-padrão do comprimento das endentações acima de 10% do valor de sua própria média (RIOS, 2004).

Ao final foram selecionados 160 blocos, sendo 80 de cada substrato dentina e esmalte. A microdureza mínima e máxima de todos os espécimes de esmalte variou de 292,0 a 383,4 KHN. Já para os espécimes de dentina a microdureza mínima 48,6KHN e máxima 68,7KHN.

Figura 6 – Microdurômetro

Após o experimento para quantificar a alteração da dureza foi realizada a microdureza final e avaliou-se a porcentagem de perda de microdureza de superfície(%PDS) de acordo com a seguinte fórmula:

$$\%PDS = \frac{\text{microdureza final} - \text{microdureza inicial}}{\text{Microdureza inicial}} \times 100$$

4.5 Proteção de dois terços dos espécimes

Para realização dos testes de perfilometria, foi necessária a utilização de esmalte cosmético para a proteção de dois terços dos blocos (colorama, São Paulo). Os dois terços do esmalte protegido foi utilizado como controle no próprio bloco analisado.

4.6 Seleção dos voluntários

Foram selecionados dez adultos jovens, na faixa etária de 18 a 40 anos, sem distinção em relação ao gênero. Os critérios adotados para exclusão da amostra foram: fumar, apresentar lesões de cárie ativa no estágio de cavitação, apresentar desgaste dentário acentuado, ter recebido métodos preventivos de alta concentração de flúor pelo menos 2 semanas antes do estudo, ter utilizado nos últimos 2 meses ou utilizado medicamentos que afetem o fluxo salivar, ter sofrido irradiação (RIOS, 2004; SALES-PERES, 2005). Ter atividades aquáticas (cloro presente nas piscinas levam o indivíduo em contato com ambientes de baixo pH) ou trabalhar em ambientes poluídos, apresentar doenças sistêmicas tais como as autoimunes, xerostomia, menopausa, diabetes tipo 1, má nutrição, problemas gastroesofágicos, e distúrbios de regurgitação e vômito, apresentar fluxo não estimulado maior que 0,1ml/min (RIOS, 2004; SALES-PERES, 2005).

O exame clínico foi realizado com espátula de madeira sob luz natural para detecção de cárie ativa em estágio de cavitação.

4.7 Avaliação do fluxo salivar estimulado

Uma vez feita a anamnese coletou-se a saliva 2 horas após a última refeição, para avaliação do fluxo salivar estimulado. Para tal o voluntário acomodou-se confortavelmente na cadeira e mascarou um pedaço de borracha esterilizada (0,5cm de tubo de látex), preso a um pedaço de 30 cm de fio dental, para estimular a produção de saliva. Após a introdução do látex na boca e o início de sua mastigação, o voluntário descartou a primeira saliva e na sequência foi iniciada a contagem de tempo de 5 minutos. Toda saliva foi depositada, pelo paciente, em um copo plástico. O volume da secreção obtida foi, a seguir, medido, utilizando-se para tal uma seringa hipodérmica milimetrada descartável (5mL). O volume medido em mL foi dividido por 5 (5 minutos de coleta) para a obtenção do fluxo em mL/min, sendo considerado normais os valores entre 1 e 3 mL/min (NAVARRO, 1995).

Figura 7- Avaliação do fluxo salivar

4.8 Preparo dos dispositivos intrabucais e instruções aos voluntários

Para análise *in situ*, os voluntários tiveram seus arcos superiores moldados com alginato (Ezact Kromm, Vigodent, rio de Janeiro, RJ, Brasil) para confecção do modelo de gesso pedra (durant, Chaves S.A. mineração e Ind. Fortaleza, CE, Brasil) e do aparelho intrabucal palatino em resina acrílica (Jet, artigos odontológicos

clássicos, São Paulo) no qual foram realizados 4 nichos (10mm x 6mm x 3mm) dispostos em 2 fileiras de cada lado (esquerdo e direito) para fixação de 2 espécimes, 4 blocos de esmalte e 4 blocos de dentina, com cera pegajosa kota, os quais ficaram na mesma altura da superfície externa da resina.

Os 80 blocos de dentina e os 80 blocos de esmalte foram divididos aleatoriamente entre o grupo com gel experimental e o grupo sem gel, de acordo com a sua dureza, para que os grupos tivessem tanto blocos com microdureza mais alta como mais baixa, assim apresentando médias e desvio padrão semelhantes. Após a separação dos blocos de dentina e esmalte entre os grupos testados, foram aleatorizados entre os tipos de condições experimentais (erosão e erosão+abrasão). A seguir foi realizada uma nova aleatorizada para a distribuição, tantos dos blocos de esmalte como os de dentina já distribuídos nas condições experimentais, entre os 10 voluntários. Após esta distribuição, os voluntários foram aleatorizados para saber quem iniciaria a fase experimental recebendo o tratamento.

As aleatorizações foram realizadas através do programa Microsoft Excel. A localização dos blocos nas fileiras horizontais correspondentes às condições experimentais foi disposta de maneira que os substratos estivessem igualmente distribuídos nas 2 fileiras do aparelho nos diferentes voluntários. A distribuição dos substratos nas fileiras verticais foi realizada de forma que, se de um lado do dispositivo bucal o bloco de esmalte estivesse na parte externa, no lado oposto o bloco de esmalte estaria no lado interno e vice-versa para os blocos de dentina.

Figura 8- Obtenção do molde

Figura.9 -Fluxograma até obtenção da placa

4.9 Composição do gel *euclea natalensis*

A formulação do gel incluiu 10% de extrato de *euclea natalensis*, Carbopol 980, metilparabeno, EDTA, solução de hidróxido de sódio.

4.10 Procedimento durante o experimento

Cada voluntário recebeu uma lista de instruções, uma pisseta com água deionizada, um frasco com clorexidina (FGM produtos odontológicos, Dentscare Ltda, Joinville, SC, Brasil) e o dentífrício fluoretado com 1450ppm escova dentária Doutor dentuço infantil macia (PHB produtos higiene brasil) um estojo plástico para guardar o aparelho, porções de gaze, bebida necessária para primeira etapa, copos de plástico padronizados para a bebida(150ml). O gel da *euclea natalensis* ficou com a pesquisadora, sendo que foi aplicado nos aparelhos intraorais do grupo experimental pela pesquisadora. Os materiais foram repostos conforme a necessidade.

Figura 10- Material fornecido aos voluntários

Antes da instalação dos aparelhos intraorais pelos voluntários, estes foram imersos em digluconato de clorexidina a 0,2%, pH 6,8 por 2 minutos para a desinfecção. O aparelho foi instalado 12 horas antes do início da fase experimental, à noite, após a última higiene e antes do voluntário dormir.

Durante o uso os voluntários removeram o aparelho para as principais refeições (café da manhã, almoço, jantar) ocasião em que o aparelho ficou envolvido em gaze embebida por água deionizada dentro da caixa plástica fornecida. Os voluntários foram orientados a não ingerirem bebidas, exceto água durante o experimento, a não ser nas horas das refeições, quando não estivessem a usar os aparelhos. Para a imersão do aparelho na bebida, os voluntários seguiram os horários pré-estabelecidos (RIOS, 2004).

Durante a etapa experimental os voluntários foram orientados em relação à escovação da 2ª fileira de acordo com o tempo a ser aguardado. A escovação foi feita com uma escova de cabeça pequena e cerdas macias (da marca Colgate®), utilizando uma quantidade mínima de dentífrico fluoretado. Em seguida escovaram durante 10 segundos os blocos previamente marcados, realizando 10 movimentos de vaivém sem aplicação da força. Em seguida o aparelho foi lavado com água corrente por 15 segundos e retornou à boca onde permaneceu por 30 minutos (SALES-PERES, 2005). Ao final deste tempo o aparelho foi retirado da boca e iniciou-se a escovação da fileira correspondente à condição.

Antes do início do experimento os voluntários foram treinados quanto à escovação sem pressão e quanto a quantidade de dentífrico ser utilizada na escovação. Durante os 5 dias eles realizaram 4 imersões no refrigerante, por 5 minutos e tomarão um gole do mesmo. Colocaram o aparelho na boca e aguardaram 30 minutos, e escovaram a 2ª fileira.

Figura 11 - Fluxograma procedimento durante o experimento aos voluntários com gel

Figura12 -Fluxograma procedimento durante o experimento aos voluntários sem gel

4.11 Determinação do desgaste

Ao final das fases experimentais e antes da avaliação de desgaste, o esmalte cosmético para unha responsável pela proteção de dois terços dos espécimes foi retirado com auxílio de uma espátula Le Cron (Duflex, White artigos dentários Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) levantado delicadamente a camada de esmalte, a fim de evitar lesões nos espécimes (RIOS, 2004;SALES-PERES, 2005).

O desgaste da superfície do espécime foi avaliado na interface controle-erosão por perfilometria, utilizando um Rugosímetro (Hommel Tester T1000, VS, Schwenningen). Para tal, a ponta apalpadora foi colocada na parte controle, percorreu toda a parte erodida e retornou ao outro controle.

Através de um software instalado em um computador ligado ao Rugosímetro, este perfil foi ilustrado em um gráfico que permitiu quantificar a diferença entre as partes (controle-erosão-controle) em micrometros.

4.12 Análise estatística

Aplicado teste estatísticos para comparar os grupos sem e com gel da euclea em esmalte ou dentina para as 2 condições. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) a 2 critérios (presença ou ausência da aplicação do gel). Para análises de variâncias foram aplicadas isoladamente para esmalte e dentina. Em caso de resposta significativa, utilizou-se o teste TUCKEY para cada fator individualmente dentro de cada variável. O nível de significância adotado foi de 5%.

5 Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Fluxo salivar

Todos voluntários apresentaram um fluxo salivar considerado normal ($>1,0\text{mL/min}$). Por essa razão puderam participar do presente estudo.

5.2 Microdureza final

TABELA 1. Perda média de dureza superficial (%) do esmalte com ou sem aplicação do gel *euclea natalensis* nas condições experimentais eros e eros+abras.

Condições	<i>Euclea Natalensis</i>	Controle
Erosão	- 47,40 $\pm$ 19,94	- 43,10 $\pm$ 19,51
Erosão+Abrasão	- 58,30 $\pm$ 11,21	- 48,86 $\pm$ 18,40

Após as condições de erosão pôde se observar em todos espécimes o aumento no tamanho das edentações e uma diminuição do polimento devido a ação do refrigerante.

TABELA 2. Perda média de dureza superficial(%) da dentina com ou sem aplicação do gel *euclea natalensis* nas condições experimentais eros e eros+abras.

Condições	<i>Euclea Natalensis</i>	Controle
Erosão	- 14,47 $\pm$ 8,36	- 33,33 $\pm$ 13,06
Erosão+Abrasão	- 22,43 $\pm$ 15,60	- 30,70 $\pm$ 14,07

A porcentagem da perda da dureza foi menor no grupo experimental que do grupo controle. A porcentagem da microdureza do grupo experimental não foi significativa em relação aos grupo .

5.2 Desgaste

As condições erosivas provocaram alterações na superfície tanto do esmalte como da dentina, e a diferença na translucidez entre as superfícies desgastadas e as protegidas pelo esmalte de unha puderam ser observadas a olho nu, em todos grupos. O desgaste foi quantificado pela diferença numérica entre a linha média do gráfico correspondente à área protegida do espécime (superfície de referência mesial) o pico da queda (desgaste) e o retorno (superfície de referência distal). Os gráficos traçados pela análise de perfil confirmaram esta observação, uma vez que neles a região protegida se apresentava como linha reta em seguida ocorria uma queda em diferentes graus, dependendo do grupo experimental a que o espécime pertencia formava outra reta com grandes irregularidades, correspondendo à área desgastada e na sequência voltava a compor a reta. Cada condição experimental foi representada por dois espécimes de cada tipo de substrato (esmalte e dentina) por voluntário. O valor do desgaste (μm) foi obtido a partir da média de desgaste de cada um deles (TABELA 3 e 4). O desgaste individual de cada um deles foi obtido por meio do valor da média e do desvio padrão de 5 leituras do perfil.

Tabela 3 –Desgaste (μm) do esmalte (média $\pm$ dp), com ou sem aplicação do gel nas 2 condições experimentais.

Condições	<i>Euclea Natalensis</i>	Controle
Erosão	12,86 $\pm$ 1,75	14,12 $\pm$ 7,66
Erosão+Abrasão	12,13 $\pm$ 2,12	16,29 $\pm$ 10,72

N=10.* Não houve diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$) para duas condições.

Tabela 4 – Desgaste (μm) da dentina (média $\pm$ dp), com ou sem aplicação do gel nas 2 condições experimentais.

Condições	<i>Euclea Natalensis</i>	Controle
Erosão	5,81 $\pm$ 1,00 ^{Aa}	13,85 $\pm$ 9,60 ^{Ab}
Erosão+Abrasão	6,16 $\pm$ 1,00 ^{Aa}	13,77 $\pm$ 7,73 ^{Ab}

N=10.* Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os grupos ($p<0,05$). Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam não haver diferença significativa entre as condições ($p>0,05$).

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

6.1 Modelos *in situ*

Os modelos *in situ*, adotados para avaliar erosão e abrasão, envolvem o uso de dispositivos bucais os quais criam um modelo muito próximo da situação clínica sem causar danos ao voluntário, uma vez que simulam processos comuns na cavidade bucal servindo de ponte entre a situação clínica natural sem controle e situação laboratorial altamente controlada (ZERO,1995; WIEGAND,ATTIN, 2011).

Uma das maiores dificuldades relatadas nos modelos *in situ* é a colaboração e o seguimento do protocolo pelos voluntários (ZERO,1995). Para reduzir este viés foi elaborado um esquema de etapas a serem seguidas pelos voluntários para garantir a execução correta do experimento por eles.

Estudos comprovaram que pesquisas *in situ* sobre erosão dentária promovem diferentes resultados quando comparados aos estudos *in vitro*, pois tendo em vista que os modelos *in situ* permitem a diluição do agente erosivo e a formação da película adquirida simulando a realidade da cavidade bucal. A presença da película adquirida em modelo *in situ* atuam como barreira promovendo menor desgaste quando comparados aos espécimes do modelo *in vitro*.(HALL et al.,1999; WIENGAND ,ATTIN, 2011)

6.2 Fluxo salivar

A saliva e a película adquirida são os principais aspectos de um modelo *in situ*, uma vez que este modelo favorece a reprodução do que acontece na boca sem a exposição do voluntário ao método adotado desafio erosivo. Embora Sales–Peres et al. (2007) tenham instalado dispositivos intrabucais palatinos 8 horas antes de iniciar a ciclagem, para que houvesse a formação da película adquirida. Este estudo propôs aos voluntários que iniciassem a utilização do aparelho no dia anterior, para

que fosse padronizado, recomendou-se que colocassem os dispositivos intrabucais palatinos 12 horas antes da primeira imersão no refrigerante.

No presente estudo observou-se menor perda da estrutura dentária quando comparado ao trabalho de Sales-Peres et al.(2007) os quais adotaram o modelo *in situ* nas análises de desafios erosivos seguidos ou não de abrasão. Esta menor perda pode ser atribuída ao período de formação e estruturação da película adquirida, sendo que houve maior tempo na presente investigação.

Para Zero e Lussi (2005), a saliva desempenha funções específicas de proteção da estrutura dentária por meio da capacidade tampão de supersaturação de cálcio, fosfato e fluoretos. As funções protetoras da saliva frente aos desafios erosivos incluem: diluição e desobstrução de substâncias erosivas na cavidade bucal, neutralização e tamponamento dos ácidos pelos íons bicarbonato, fornecimento de cálcio, fosfato e possivelmente fluoretos necessários à remineralização e manutenção de um estado supersaturado na superfície dentária, uma vez que há a presença de cálcio e fosfato na saliva. Por essa razão, um dos critérios de inclusão neste estudo foi a avaliação do fluxo salivar, sendo que só participaram os voluntários que apresentaram fluxo salivar normal. De acordo com Branco et al. (2008), um fluxo salivar baixo pode contribuir para o quadro de erosão, já que a saliva e seus componentes protegem os dentes pela neutralização da acidez.

A película adquirida pode ter desempenhado um papel na prevenção da desmineralização do esmalte. O tempo de formação da película é muito importante relacionada a sua capacidade de proteger a superfície dentária contra o ataque ácido. Somente uma película madura e com determinada espessura pode retardar o processo de difusão ácida (ZERO, LUSSI, 2005). Alguns estudos relatam efeitos protetores da película adquirida formada por após 3 minutos depois(HANNIG et al.,2004). O tempo mais comum de formação de uma película adquirida encontrado na literatura ate que ela atinja o equilíbrio é de 2 horas (LENDENMANN et al.,2000). Skjorland et al. em 1995 verificaram em seu estudo *in vitro* que a película adquire uma espessura inicial em 2 a 3 minutos em que permanece nos 30 minutos subsequentes.

Neste estudo não houve diferença significativa no esmalte entre os grupos gel da *euclea natalensis* e controle. A película adquirida pode funcionar como uma barreira de difusão ou membrana semi-permeável evitando contato direto entre os ácidos e a superfície do dente evitando assim a desmineralização (AMAECHI et al., 1999; HANNIG, 1999).

Estudos futuros poderão evidenciar as diferenças encontradas entre períodos de formação da película adquirida e seus benefícios.

6.3 Microdureza e desgaste

As análises para mensurar o desgaste dentário foram a microdureza e a perfilometria. No presente estudo optou-se por realizar 5 edentações aleatórias e calcular a média, uma vez que a erosão não ocorre de forma homogênea na superfície dentária. Em relação à microdureza superficial, observou-se maior perda de dureza para o esmalte quando a erosão esteve associada à abrasão, independentemente do grupo.

Pode-se observar que em esmalte houve maior perda de substância quando a erosão esteve associada à abrasão apesar de não ter sido estatisticamente significativo entre os grupos (*euclea natalensis* e controle). Esse fato reforça a hipótese que a escovação realizada após 30 minutos em esmalte deveria ter sido postergada para 1h, uma vez que houve maior perda na condição erosão associada à abrasão de acordo com a literatura. Bartlett (2005) e Resende et al. (2005) propuseram a realização a higiene bucal (escovação) após algum tempo à ingestão de alimentos para que o tampão salivar anule o pH ácido dos alimentos, tendo em vista que a proximidade de tempo da alimentação ácida com a escovação dos dentes é um fator de risco para a erosão dentária. Quando se realiza a higiene bucal imediata (escovação) após as refeições, a saliva não consegue reequilibrar o pH que por sua vez, mantém-se em estado ácido e na presença de força mecânica realizada durante a escovação, ocorre um processo sinérgico de desgaste nos dentes.

Na dentina a menor perda de dureza também ocorreu na condição erosão associada à abrasão, sendo que no grupo experimental a perda foi menor, não

sendo estatisticamente significativa. O estudo prévio, *in vitro*, que avaliou a utilização do gel de *euclea natalensis* antes do desafio erosivo em dentina, mostrou que houve menor perda de substância ($7,36 \pm 1,07$) quando comparado ao controle ($9,92 \pm 1,66$) ($p < 0,05$) (IONTA et al., 2011).

O fato de o efeito protetor do gel da *euclea natalensis* contra o desgaste ter sido grande em dentina parece ir ao encontro dos achados de Brianezzi et al. (2011), que avaliou a eficácia de um gel contendo extrato de *euclea natalensis* na redução da permeabilidade da dentina humana. Os resultados mostraram que os géis contendo o extrato da *euclea natalensis* conseguiram obliterar os túbulos dentinários reduzindo a permeabilidade em dentina.

Os resultados demonstram que tanto o esmalte como a dentina apresentaram menor perda de dureza quando a condição erosão associada á abrasão foi analisada. Este achado reforçar dados apresentados na literatura (RIOS et al., 2006), que demonstraram menor perda de dureza quando esta está associada à escovação devido a remoção da camada superficial amolecida após o desafio erosivo.

Neste estudo o gel contendo *euclea natalensis* reduziu o efeito erosivo e abrasivo nos substratos esmalte e dentina, sendo essa prevenção significativa no último substrato, tanto para dureza como para desgaste.

Esta diferença entre os substratos pode ser atribuída às diferentes composições do esmalte e da dentina. Estudos têm demonstrado que a desmineralização da dentina ocorre primeiramente na interface entre as dentinas inter e peritubular. Com o tempo de exposição crescente ao desafio erosivo resulta no esvaziamento e afunilamento dos túbulos dentinários. A dentina peritubular é completamente dissolvida. A desmineralização resulta na exposição de uma camada de colágeno totalmente desmineralizada, sob dentina normal (KINNEY et al., 1995). A presença dessa camada orgânica desmineralizada pode interferir na difusão iônica, atuando na desmineralização (GANSS et al., 2001).

A matriz orgânica da dentina pode ser degradada tanto mecânica e como quimicamente, o que pode contribuir para uma maior progressão do desgaste em dentina (KATO et al., 2010). Quimicamente, a matriz orgânica da dentina pode ser

degradada pela MMPs (principalmente as MMPs 8, 9 e 2) que provocam a quebra de praticamente todas as moléculas da matriz extracelular, incluindo colágeno nativo e desnaturado (KATO et al., 2010) .

Uma possível justificativa da ação benéfica do extrato de *euclea natalensis* na redução da perda de estrutura, frente a um desafio ácido, pode ser devido à presença de flavonoides e taninos na raiz da planta *euclea natalensis* (McGAW et al., 2008). Estas enzimas podem formar uma camada protetora sobre os dentes (MOON et al., 2006; SALES-PERES et al., 2007). Sales-Peres et al (2007) sugeriram que o menor potencial erosivo do Guaraná poderia estar relacionado com os seus componentes, como os flavonóides e os taninos. Estes têm sido descritos como tendo propriedades anticariogênicos e também o óleo extraído das sementes que contém principalmente ácido oléico (37,4%) e cis-11-octadecenóico e cis-11-ácidos eicosénóico (30,4 e 38,7%, respectivamente), que podem formar uma camada protetora sobre os dentes, reduzindo o potencial erosivo.

De acordo com um estudo *in situ*, que analisou o efeito de uma solução de 0,61% de extrato de chá verde na redução do desgaste dentinário por erosão seguida ou não de abrasão, mostrou que a solução contendo chá verde apresentou redução no desgaste quando comparado ao grupo controle para ambas condições. Os autores concluíram que a presença de polifenóis presentes no chá verde pode ter efeito inibidor das MMPs presentes na matriz da dentina (MAGALHÃES et al., 2009). Um estudo utilizando a análise histoquímica revelou a presença de naftoquinonas, polifenólicos (tais como flavonoides e taninos) na raiz da *euclea natalensis* (FILIPPE et al., 2008). De acordo com a literatura apresentada, pode-se justificar o possível efeito terapêutico do extrato da *euclea natalensis* estar relacionado a inibição das metaloproteinases na matriz da dentina. Este fato pode ser justificado quanto a análise da dureza, na qual no grupo da *euclea natalensis* apresentou maior perda de dureza, que sinaliza a possibilidade de estruturação das fibras colágenas que apresentam certa flexão.

Os taninos condensados (TC) ou proantocianidina são constituídos por unidades flavanol: flava-3-ols (catequina) ou flavan 3,4-diols (leucoantocianinas). Os TC taninos condensados podem conter de 2 a 50 unidades flavanóides; possuem estruturação complexa; são resistentes à hidrólise, mas podem ser solúveis em

solventes orgânicos aquosos, dependendo de sua estrutura. Ainda podem precipitar proteínas das células formando uma camada protectora (HASLAM, 1996), que pode ser um dos motivos do efeito benéfico da *euclea*.

Estudos também mostraram que os compostos polifenólicos, presentes na *euclea natalensis*, podem apresentar inibição na adesão de *S. mutans* na hidroxiapatita, enquanto outros discutem o seu efeito sobre a remineralização do esmalte (LI et al., 2004; PETTI, SCULLY, 2009). Assim o extrato da *euclea natalensis* pode ser uma alternativa para a saúde bucal, prevenindo cárie dentária (STANDER, WYK, 1991), desgaste dentário (IONTA et al., 2011) e sensibilidade dentinária (BRIANEZZI et al., 2011).

6.4 Vernizes e géis

Diferentes veículos e produtos vêm sendo propostos para reduzir ou minimizar os desafios erosivos que os indivíduos estão expostos. Entretanto, não há na literatura uma concordância em relação ao método preventivo a ser adotado.

A erosão dentária pode causar a ocorrência da hipersensibilidade dentinária que é um fenômeno de alta incidência, na qual ocorre uma resposta exacerbada a um estímulo sensorial. Vários os tratamentos propostos para essa alteração, contudo ainda não se estabeleceu o veículo ideal (solução, verniz, gel) para tratar as lesões. De acordo com Barbosa et al. (2005) o tratamento ideal deve ser de fácil aplicabilidade, custo reduzido, não devendo provocar danos ao tecido dentário ou à polpa e, de preferência, com resultados de longa duração. De acordo com a literatura tanto géis como vernizes podem ser eficazes na prevenção da erosão (Murakami et al., 2009). Os vernizes funcionam como uma camada de recobrimento que impermeabiliza a dentina. E os géis fazem a obliteração da embocadura dos canalículos dentinários, reduzindo a erosão e a permeabilidade da dentina. (PEREIRA, 1995). No trabalho de Ionta et al. (2011) e Brianezzi et al. (2011), o mecanismo de ação do gel da *euclea natalensis* parece ter ocorrido como um veículo capaz de obliterar os canalículos dentinários, reduzindo significativamente a erosão e permeabilidade. O produto testado nesta pesquisa, foi desenvolvido para o

uso em Saúde Pública, visando ampliar o custo-benefício, que é oferecido pelos géis.

Previamente a este estudo, para que fossem definidos os géis a serem adotados na etapa *in situ* baseou-se em um estudo *in vitro*, no qual foram avaliados diferentes géis (gel com extrato de *euclea natalensis*, gel base e gel de fluoreto de sódio). Foi encontrada diferença significativa entre os géis contendo o extrato de *euclea natalensis* e o gel base, sendo que este último não apresentou nenhum efeito preventivo para erosão dentária. A capacidade de prevenir o desgaste dentário causado por desafios ácidos foi atribuída ao princípio ativo da *euclea natalensis*. Dessa forma, ao se considerar os resultados do estudo de Ionta et al. (2011), a presente investigação utilizou em fase cruzadas 2 grupos, com gel e sem gel, sendo que todos os voluntários foram submetidos as mesmas condições.

Esta pesquisa foi pioneira no uso de gel contendo *euclea natalensis in situ* como método preventivo seguido de desafio erosivo associado ou não à abrasão. Embora, os extratos da raiz da *euclea natalensis* tenham sido utilizados como remédio natural e para tratamento de outras patologias (PALGRAVE e DRUMMOND, 1977). Ainda não há relatos referentes à sua aplicação na erosão seguida ou não de abrasão.

Estudos clínicos futuros são necessários para avaliar o mecanismo de ação da planta *euclea natalensis* após o desafio erosivo, tanto em esmalte como em dentina.

Deve-se salientar a importância dos achados deste estudo principalmente para a Odontologia africana, tendo em vista que o uso da raiz *euclea natalensis* como instrumento de higiene bucal é muito difundido na África, principalmente na África do Sul (STANDER e VAN WIK, 1991). Desta forma esta raiz poderia ser utilizada não apenas para as doenças bucais mais frequentes, como a cárie dentária e a doença periodontal, mas também para uma possível redução da perda de estrutura dentária devido à redução do pH.

A importância deste estudo para procedimentos clínicos se pauta na abertura de uma nova alternativa de método preventivo para erosão dentária seguida ou não de abrasão, considerando todos os benefícios já demonstrados que o gel contendo *euclea natalensis* pode oferecer.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados obtidos neste estudo *in situ*, pode-se concluir que o gel contendo *euclea natalensis* permitiu uma menor perda de estrutura dentária frente ao desafio erosivo associado ou não a abrasão, independente do tipo de substrato, esmalte ou dentina. Por essa razão, o uso do gel contendo a *euclea natalensis* pode ser indicado na prevenção da erosão dentária associada ou não à abrasão.

Referências

REFERÊNCIAS

- Addy M, Hughes J, Pickles MJ, Joiner A, Huntington E. Development of a method *in situ* to study toothpaste abrasion of dentine. Comparison of 2 products. J Clin Periodontol. 2002;29(10):896-900.
- Aguilar C, Augus C, González GV, Favela E. A comparison of methods to determine Tannin Acyl Hydrolase Activity. Braz Arch Biol. Techonol. 1999;42(3): 355-361.
- Al-majed , Maguire A, Murray JJ. Prevalence and risk factors for dental erosion in 5-6 years old and 12-14 year old boys in Saudi Arabia. Community Dent Oral Epidemiol. 2002;30(1):38-46.
- Al-Dlaigan YH , Shaw L, Smith A. Dental erosion in a group of British 14- year-old school children. Part I. Prevalence and influence of differing socioeconomic backgrounds. Br Dent J. 2001;190:145-149.
- Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. J Dent Res. 1999;78(12):1821-8.
- Attin T, Buchalla W, Gollner M, Hellwing E. Use of variable remineralization periods to improve , the abrasion resistance of previously eroded enamel. Caries Res. 2000;34(1):48-52.
- Attin T, Knofel S, Buchalla W, Tutuncu R. *In situ* evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. Caries res. 2001;35(3):216-22.
- Asher C, Read MJ. Early enamel erosion in children associated with the excessive consumption of citric acid. Br Dent J. 1987;162(10):384-7.
- Bartlett DW . The role of erosion in tooth wear: a etiology, prevention and management. Int Dent Jour. 2005;55:277-84.
- 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.
-

Barbosa LPB, Prado Junior RR, Mendes RF. Lesões cervicais não-cariosas: etiologia e opções de tratamento restaurador. Revista Dentística on line – ano 8. 2009. 18.

Battestin V, Matsuda LK, Macedo GA. Alim Nutr Araraquara. 2004;15(1):63-72.

Branco C, Valdivia ADCM, Soares PBF, Fonseca RB, Fernandes Neto AJ, Soares CJ. Erosão dental: diagnóstico e opções de tratamento. Rev Odont Unesp. 2008;37(3):235-42.

Brianezzi LFF, Marsicano JA, Forim MR, Silva MFGF, Sales-Peres SHC. Avaliação *in vitro* do potencial de um gel contendo euclea natalensis na redução da permeabilidade dentinária. Braz Oral Res. 2011;25(suppl 1):66-6.

Borjian A, Ferrari CCF, Anouf A, Touyz LZG. Pop-Cola. Acids and Tooth Erosion: An *In Vitro*, *In Vivo*, Electron-Microscopic, and Clinical Report. International Journal of Dentistry. 2010.

Bryant AT. Zulu Medicine and Medicine-men Struik. Cape town.1966.

Brookes S. Inhibitory effect of metal ions on acid demineralization. Caries res. 2004;38:401. 51st Annual ORCA Congress.

Bueno MG, JA Marsicano JA, Sales-Peres SHC. Preventive effect of iron gel with or without fluoride on bovine enamel erosion in vitro. Australian Dental Journal. 2010;55:177-180.

Carranza FA, Bulkacz. Mecanismos de defesa da gengiva. IN Periodontia Clinica. 1997:112-113.

Cavalcanti AL, Xavier AFC, Souto RQ, Oliveira MC, dos Santos JÁ, Vieira FF. *In vitro* Evaluation of the Erosive Potential of Sports Drinks. Rev Bras Med Esporte. 2010;16(6).

Claudino LV, Valença AMG, Guedes de Lima, de Lima AL, de Medeirosiv MID. Características Microestruturais do Esmalte. Pesq Bras Odontoped Clin Integr. 2007;7(3):303-308.

Cheng R, Yang H, Shao M, Hu T, Xue- Zhou X. Dental erosion and severe tooth decay related to soft drinks: a case report and literature review. J Zhejiang Univ Sci B. 2009;10(5):395-399.

Cheaib Z, Lussi A. Impact of acquired enamel pellicle modification on initial dental erosion. *Caries Res.* 2011;45(2):107-12. Epub 2011.

Cunningham, AB. African medicinal plants: setting priorities at the interface between conservation and primary healthcare. People and Plants Working Paper 1. UNESCO, Paris. 1993.

Cury JA, Hashizume LN, Del Bel Cury AA, Tabchoury CPM. Effect of Dentifrice Containing Fluoride and/or Baking Soda on Enamel Demineralization/Remineralization: An *in situ* Study. *Caries Res.* 2001;35:106-110.

Da Silva MC. A preliminary checklist of the vascular plants of Mozambique report. Southern African botanical diversity network. 2004;53(30).

Davis WB, Winter PJ. The effect of abrasion on enamel and dentine after exposure to dietary acid. *Brit Dent J.* 1980;148:253-7.

Desphande SS, Cheryan M, Salunkhe E DK. Tannin analysis of foods products. *CRC Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 1986;24:401-449.

Duran LC, Lopez AM, Cotrina LD. Evaluación *in vitro* del efecto erosivo de tres bebidas carbonatadas sobre a superfície do esmalte dentário. *Rev Estomatol Herediana.* 2007;17(2).

Eisenburger M, Addy M. Evaluation of pH and erosion time on demineralisation. *Clin Oral Investig.* 2001;5(2):108-11.

Eygen IVA, Vannet BV, Wehrbein H. Influence of a soft drink with low pH on enamel surfaces: An *in vitro* study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2005;128:372-7.

Engle K, Hara AT, Matis B, Eckert GJ, Zero DT. Erosion and Abrasion of Enamel and Dentin Associated With At-Home Bleaching : An *In Vitro* Study. *J Am Dent Assoc.* 2010;141;546-551.

Evans WC. *trease na evans-pharmacognosy* 15th edition. 2002:244-5 Saunders.

Filho G W, Silva V A. Lesões não cariosas.ed santos. 2008:17-43, 33-55

Filipe M, Gomes E.T., Serrano R. e Silva. O Caraterização farmacognostica da raiz de *euclea natalensis*.

Fushida CE, Cury J A. Estudo *in situ* do efeito da frequência de ingestão da coca-cola® na erosão de esmalte-dentina e reversão pela saliva. Rev odontol Univ São Paulo. 1999;31(2):127-34.

Grando JL, Gabilan NH, Petry A, Cardoso AC, Tames DR. Erosão dental: estudo *in vitro* da erosão causada por refrigerantes e suco de limão no esmalte de dentes decíduos humanos .análises bioquímicas. Ver Odontoped. 1995;4(1):1-10.

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

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

Haslam E. Natural Polyphenols (vegetable tannis) as drugs and medicines: possible modes of action. Journal of natural products. 1996;59:205-215.

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

Hara AT, Turssi CP, Teixeira EC, Serra MC, Cury JA. Abrasive wear on eroded root dentine after different periods of exposure to saliva *in situ*. Eur J Oral Sci. 2003;111(5):423-7.

Hara AT, Ando M, Gonzalez- Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges *in situ*. J Dent Res. 2006;85(7):612-6.

Hara AT, Gonzalez- Cabezas C, Creeth J, Zero DT. The effect of human saliva substitutes in an erosion–abrasion cycling model. Eur J Oral Sci. 2008;116: 552–556.

Hannig M, Balz M. Influence of *in vivo* formed salivary pellicle on enamel erosion. Caries Res. 1999;33(5):372-9.

Hannig M, Fiebiger M, Guntzer M, Dobert A, Zimehl R, Nekrashevychy. Protetive effect of the *in situ* formed short-term salivary pellicle. Arch. Oral Biol. 2004;49(11)903-10.

-
- Hannig C, Berndt D, Hoth-Hannig W, Hannig M. The effect of acidic beverages on the ultrastructure of the acquired pellicle--an *in situ* study. *Arch Oral Biol*. 2009 Jun;54(6):518-26. Epub 2009 Mar 26.
- Homer KA, Manji F, Beighton D. Inhibition of protease activities of periodontopathic bacteria by extracts of plants used in Kenya as chewing sticks (mswaki). *Arch Oral Biol*. 1990;35(6):421-4.
- Hooper S, West NX, Pickles MJ, Joiner A, Newcombe RG, Addy M. Investigation of erosion and abrasion on enamel and dentine: a model *in situ* using toothpastes of different abrasivity. *J Clin Periodontol*. 2003;30:802-8.
- 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;42:68–72.
- Hove LH, Holme B, Stenhagen KR, Tveit AB. Protective Effect of TiF_4 Solutions with Different Concentrations and pH on Development of Erosion-Like Lesions. *Caries Res*. 2011;45:64–68.
- Hughes JA, West NX, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 3: final drink and concentrate, formulae comparisons *in situ* and overview of the concept. *J Dent*. 1999;27(5):345-50.
- Hunter ML. Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue I the oral environment. *J Dent*. 2000;28(4):257-6.
- Huysmans MCDNJM, Chew HP, Ellwood RP. Clinical Studies of Dental Erosion and Erosive Wear. *Caries Res*. 2011;45(suppl 1):60–68.
- Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci*. 1996;104(2):151-5.
- Ireland AJ, McGuinness N, Sherriff M. An investigation into the ability of soft drinks to adhere to enamel. *Caries Res*. 1995;29(6):470-6.
- Italiani FM. Efeito do íon de ferro na prevenção da erosão dentária (tese doutorado) estudo *in situ*, Faculdade de Odontologia de Bauru, 2010.
- Ionta FQ, Marsicano JA, Xavier CNH, Forim MR, Silva MFGF, Sales-Peres SHC. Efeito preventivo de géis contendo *euclea natalensis* em dentina bovina submetido ao desafio erosivo *in vitro*. *Braz Oral Res*. 2011;25(suppl 1):29-50, p 132.
-

Jaeggi T, Lussi A. Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intraoral exposure to saliva: an *in situ* study. *Caries res.* 1999;33(6):455-61.

Jensdottir T, Arnadottir IB, Thorsdottir I, Bardow A, Gudmundsson K, Theodors A, Holbrook WP. Relationship between dental erosion, soft drink consumption, and gastroesophageal reflux among Icelanders. *Clin Oral Investig.* 2004;8(2):91-6. Epub 2004.

Jensdottir T, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A. Effects of Sucking Acidic Candy on Whole-Mouth Saliva Composition. *Caries Res.* 2005;39:468–474.

Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P. Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential *in vitro*. *Journal of Dentistry.* 2005;33:569–575.

Jensdottir T, Holbrook P; Nauntofte B, Buchwald C; Bardow A. Immediate erosion potential of cola drinks and orange juice. *J Dent Res.* 2006;85:226-230.

Johansson AK, Lingström P, Birkhed D. Effect of soft drinks on proximal plaque pH at normal and low salivary secretion rates. *Acta Odontol Scand.* 2007 65(6):352-6.

Khan MR, Nkunya MHH. Antimicrobial activity of Tanzanian traditional medicinal plants, IN: Mshigeni K E. proceedings of an international conference on

experts from developing countries on traditional medicinal plants, Arusha, Tanzania 18-23 Feb 1990, Ministry of Health, United Republic of Tanzania. 1991.

Kato MT, Maria AG, Luís Guilherme Matiazi Vaz, Italiani FM, Sales-Peres SHC, Buzalaf MAR. Effect of iron supplementation on the erosive potential of carbonated or decarbonated beverage. *J Appl Oral Sci.* 2007;15(1):61-4.

Kato MT, Sales-Peres SHC, Buzalaf MAR. Effect of iron on acid demineralisation of bovine enamel blocks by a soft drink. *Archives of Oral Biology.* 2007;52:1109 -1111.

Kato MT, De Moraes, Italiani F, De Araújo JJ, Garcia MD, Sales-Peres SHC, Buzalaf MA. Preventive effect of iron varnish on bovine enamel erosion *in vitro*. *J Dental.* 2009;37(3):233-6.

Kato MT, Maria AG, Sales-Peres SHC, Buzalaf MA. Effect of iron on the dissolution of bovine enamel powder *in vitro* by carbonated beverages. *Arch Oral Biol.* 2007; 52(7):614-7.

-
- Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Oliveira RC, Pereira JC, Tjäderhane L, Buzalaf MAR. Effect of Iron on Matrix Metalloproteinase Inhibition and on the Prevention of Dentine Erosion. *Caries Res.* 2010;44:309–316.
- Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Buzalaf MA. Gels containing MMP inhibitors prevent dental erosion in situ. *J Dent Res.* 2010;89:468-72.
- Kim HD, Douglas CW. Associations between occupational health behaviors and occupational dental erosion. *J public health dent.* 2003;63(4):244-249.
- Kliemann C. Lesões cervicais não-cariosas por abrasão (Escovação traumática). *J Bras Clin Estet Odontol.* 2002;6(33):204-209.
- Kinney J, Balooch M, DHaupt DL, Jr, Marshall SJ, Marshall, GW Jr. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. *J Dent Res.* 1995;74(5):1179-1184.
- Lall N, Meyer J J. Antibacterial activity of water and acetone extracts of the roots of *Euclea natalensis*. *J Ethnopharmacol.* 2000;72(1-2):313-6.
- Lall N. Antifungal activity of naphthoquinones and triterpenes isolated from the root bark of *euclea natalensis*. *South African Journal of Botany.* 2006;72(4):579-83.
- Lee WC, Eakle WS. Possible role of tensile stress in etiology of cervical erosive lesions of teeth. *J Prosthet Dent.* 1984;52(3):374-80.
- Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle- a review. *ADV Dent Res.* 2000;14:22-8.
- Legeré K. Plant names from North Zanzibar, Africa & Asia. 2003;3(1):123-46.
- Li YB, Lin ZQ, Zhang ZJ, Wang MW, Zhang H, Zhang QW, Lee SMY, Wang YT, Hoi PM. Protective, Antioxidative and Antiapoptotic Effects of 2-Methoxy-6-Acetyl-7-Methyljuglone from *Polygonum cuspidatum* in PC12 Cells. *Planta Med.* 2011;77:354–361.
- Loffler L, Loffler P. Swaziland tree atlas-including selected shrubs and climbers report no 38, 69 Southern African Botanical Diversity Network. Pretoria.
-

Lodi CS, Sassaki TK, Fraiz FC, Delbem ACB, Martinhon CCR. Evaluation of some properties of fermented milk beverages that affect the demineralization of dental enamel. *Braz Oral Res.* 2010;24(1):95-101.

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

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.

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

Lussi A, Hellwing T, Zero D , Jaeggi T. Erosive tooth wear, diagnosis risk factors and prevention. *J Dent.* 2006;19(6) 312-25.

Lussi A. Dental erosion; from diagnosis to therapy. *Community dental oral epidemiol.* 2006;34: 398-99.

Maia LC, Modesto A. Análise comparativa, ao microscópio eletrônico de varredura, do esmalte bovino exposto a diferentes soluções ácidas: um estudo in vitro. *Rev Odontol Univ São Paulo.* 1996;10(3):161-8.

McGaw LJ, Lall N, Hlokwé TM, Michel AL, Meyer JJ, Eloff JN. Purified Compounds and Extracts from *euclea* Species with Antimycobacterial Activity against *Mycobacterium bovis* and Fast-Growing Mycobacteria. *Biol Pharm Bull.* 2008;31(7):1429-1433.

Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Botazzo Delbem AC, Buzalaf MAR . Effect of 4% titanium tetrafluoride solution on the erosion of permanent and deciduous human enamel an *in situ ex vivo* study. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(1):56-60.

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Hannas A, Attin T, et al. Chlorhexidine and green tea extract reduce dentin erosion and abrasion *in situ*. *J Dent.* 2009; 37:994-8.

Magalhães AC; Rios D; Martinhon CCR; Delbem ACB, Buzalaf MAR; Machado MAAM. The influence of residual salivary fluoride from dentifrice on enamel erosion: an *in situ* study. *Braz Oral Res.* 2008;22(1):67-71.

Maganga S, Hembo P, Vidunda. People and their plant names, 118 Africa e Asia (4) 2004.

Mangue PD, Oreste MN. Country brief on non-wood forest products. republic of Mozambique, project GCP/INT/679/EC-FAO Partnership programme pp 13, Maputo.1999.

Martins NCC. *Euclea natalensis* Instituto de Ciências e tecnologias de Moçambique.2006.

Marochi CS, Queiroz VAO. Lesões não cariosas. IN: Gomes JC.Estetica em clinica odontologico.2004.1ed Curitiba: editora Maio,151-194.

Matos AB, Matson E. Contribuição ao estudo microinfiltração in vitro de lesões cervicais não cariosas restauradas com diferentes materiais adesivos e técnicas. Rev Odontol Univ São Paulo. 1997 ;11.

Medeiros UV, Brum SC. A proteção do esmalte por substânciasfluoretadas e os desafios cariogênicos. Rev Assoc Paul Cirurg Dent. 1998;52(6):454-9.

Meurman JH, Härkönen M, Näveri H, Koskinen J, Torkko H, Rytömaa I, Järvinen V, Turunen R.Experimental sports drinks with minimal dental erosion effect.Scand. j dent res. 1990;98(2):120-8.

Meurman JH, Ten Gate JM. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. Europ Journal of Oral Sciences. 1996;104 (2) :199–206.

Moretto MJ, Magalhães AC, Sassaki KT, Delbem AC, Martinhon CC. Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. Caries Res. 2010;44(2):135-40. Epub 2010 Apr 2.

Moynihan P. The british Nutricion foundation Oral Task force Report-issues relevant to dental health professionals. B D J. 2000;188(6):308-312.

Murakami C, Necker MB, Correa MSNP, Mendes FM, Rodrigues CRMD, .Effect of fluoride varnish and gel on dental erosion in primary and permanent teeth. archives of biology. 2009:997-1001.

Navarro MFL. Fatores determinantes do risco de cárie. Maxi-Odonto: dentística. 1995;1(4):5-16.

Newman DJ, Craigg GM, Snader KM. Nat prod. 2000;17:215-234.

Nunn JH Gordon PH, Morris AJ, Pine CM, Walker A. Dental erosion-changing prevalence. A review of british national children´s surveys. Int J Paediatric Dent. 2003;13(2):98-105.

Nunes NB; Oliveira DC, Filho ISG; Passos JS. LESÕES cervicais Não-cariosas : OPÇÕES de tratamento , Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010. .

Owens BM, Kitchens M. The erosive potential of soft drinks on enamel surface substrate an in vitro scanning electron, microscopy investigation. The J of contemp dent pract. 2007;8(7):1-10.

Palgrave KC. Trees of southern Africa ,1stEdition.c struik publishers.1977;738-9.Cape town.

Panich M, Poolthong S. The Effect of Casein Phosphopeptide-amorphous Calcium, Enamel Hardness Phosphate and a Cola Soft Drink on In Vitro. J Am Dent Assoc. 2009;140:455-460.

Parry J, Shaw L ,Arnaud MJ, Smith J. Investigation of mineral water and soft drinks in relation to dental erosion. J Oral rehabil. 2001;28:766-72.

Pereira JC. Hiperestesia dentinária: aspectos clínicos e formas de tratamento. Maxi-Odonto: Dentística. 1995;1(2):1-23.

Petti S , Scully C.Polyphenols, oral health and disease: A review. journal of dentistry 37. 2009;413-423.

Piangprach, T; Hengtrakool, C; Kukiattrakoon B, Kedjarune-Leggat U .The Effect of Salivary Factors on Dental Surfaces Erosion in Various Age Groups and Tooth . J Am Dent Assoc. 2009;140:1137-1143.

Resende VLS, Castilho LS, Faria CVCM, Texeira GS,Campos MCBM,, Ruas MBL,Lopes RCP.Erosão dentária ou perimólise: a importância do trabalho da equipe em saúde. Arq. em Odontol. 2005;41(2):32-8.

Rios D. Avaliação *in situ* do efeito erosivo de um refrigerante associado ou não á escovação e ação salivar, em dentes humanos e bovinos .Bauru, 2004, 216p tese de doutorado, Faculdade de odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

Rios D, Honório HM, Magalhães AC, Buzalaf MAR, Palma-Dibb RG, Machado MAAM, da Silva SMB. Influência da escovação no amolecimento superficial do esmalte e desgaste do esmalte bovino erodido: um estudo *in situ*. Braz Oral Res. 2006;20(2):148-54.

Rios D, HM Honório, AC Magalhães, Delbem A.CB, Machado MAAM, Silva SMB, Buzalaf MAR. 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. 2006;40: 218–223.

Rios D, Magalhães AC, Polo ROB, Wiegand A, Attin T, Buzalaf MAR. The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. J Am Dent Assoc. 2008;139:1652-1656.

Rochel ID, Souza JG, Silva TC, Pereira AFF, RIOS D, Buzalaf MAR, MAGALHÃES AC. Effect of experimental xylitol and fluoride-containing dentifrices on enamel erosion with or without abrasion *in vitro*. Journal of Oral Science. 2011;53(2):163-168.

Setshogo MP, Venter F. Trees of Botswana-names and distribution, report no 18,52.southern African botanical diversity network.2003. Pretoria

Stander I, Van Wyk C W. Toothbrushing with the root of *Euclea natalensis*. J Biol Buccale. 1991;19(2):167-72.

Sales-Peres SHC. Avaliação *in situ* da ação do bochecho com solução de sulfato ferroso na superfície dentária, após a ação de um refrigerante para reduzir o efeito sinérgico entre erosão e abrasão. Bauru, 2005, 211p tese de doutorado, Faculdade de odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

Sales- Peres SHC, Pessan JP, Buzalaf MAR. Effect of an iron mouthrinse on enamel and dentine erosion subjected or not to abrasion: An *in situ/ex vivo* study. Arch oral boil. 2007;52(2):128-32.

Sales-Peres SHC, Magalhães AC, Machado MAAM; Buzalaf MAR. Evaluation of The Erosive Potential of soft drinks. Eur J Dent. 2007;1:10-13.

Silva MIG, Gondim APS, Nunes IFS, Sousa FCF. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). Rev Bras Farmacogn. 2006;16:455-462.

Sobral MAP, Luz MAAC, Gama-Teixeira A, Netto NG. Influence of the liquid acid diet on the development of dental Erosion. 2000;14(4):406-410.

Sobral MAP, Garone N. Aspectos clínicos da etiologia da hipersensibilidade dentinária cervical. Rev Odontol Univ São Paulo. 1999;13(2):189-95.

Sofowara, A. 1981. Man, plants and medicine in Africa. Inaugural lecture, University of Ife, Ile-Ife, Nigeria, (quoted in Makine, M A. 1988. African Philosophy, Culture and Traditional Medicine. Ohio, U.S.A. Ohio Center for International Studies).

Shaw L, Smith AJ. Dental erosion -the problem and some practical solutions. British dental journ. 1998;186(3):115-118.

Smith BG, Bartlett DW, Robb ND. The prevalence, etiology and management of tooth wear in the United Kingdom. J Prosthet Dent. 1997;78(4):367-72.

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

Skjorland KK, Rykke M, Sonju T. Rate of pellicle formation *in vivo*. Acta Odontol Scand. 1995;53(6):358-62.

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

Torres CP, Chinelatti MA, Gomes-Silva JM ,Rizoli FA, Oliveira MAHM, Palma Dibb RG , Borsatto MC .Surface and Subsurface Erosion of Primary Enamel by Acid Beverages over Time. Braz Dent J. 2010;21(4):337-345.

Van eygen I; Vannet BV ; Wehrbein H. Influence of soft drinks with low ph on enamel surfaces.an in vitro study. Am J orthod dentfacial ortho. 2005;128:372-377.

Van Wyk B, Van Wyk P. Field guide to trees of southern Africa.Mckenzie street. Cape town. 1997.

Vieira A, Ruben JL , Huysmans M.C. Effect of Titanium Tetrafluoride, Amine Fluoride and Fluoride Varnish on Enamel Erosion in vitro. Caries Res. 2005;39:371–379.

Vieira A, Jager DHJ, Ruben JL, Huysmans MC. Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. Caries Res. 2006;41(1):61-7.

Vieira A, Jager DHJ, Ruben JL, Huysmans MCDNJ . Inhibition of Erosive Wear by Fluoride Varnish. Caries Res. 2007;41:61–67.

Watt JM, Breyer-brandwijk MG. The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa 2nd edition 390. 1962. E & S. Livingstone Ltd. Edinburgh and London.

Weigenand O, Ahmed A. Hussein, Namrita Lall, Jacobus Meyer JM. Antibacterial Activity of Naphthoquinones and Triterpenoids from *Euclea natalensis* Root Bark. J. Nat. Prod. 2004;67:1936-1938.

West NX, Maxwell A, Hughes JA, Parker DM. A method to measure clinical erosion, the effect of orange juice consumption erosion of enamel. J Dental. 1998 26(4):329-35.

West NX, Lall N, Meyer JJM, Lall, J.J.M. Meyer. 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.

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 erosion of dentine and enamel by dietary acids *in vitro*. J Oral Rehabil. 2001;28(7):860-4.

Wetton S, Hughes J, West N, Addy M. Exposure Time of Enamel and Dentine to Saliva for Protection against Erosion: A Study *in vitro*. Caries Res. 2006;40:213–217.

Wiegand A, Attin T. Design of Erosion/Abrasion Studies: Insights and Rational Concepts. Caries Res. 2011;45(suppl 1):53–59.

Wondergem P, Senah K.A, Glover E.K. 1989. Herbal Drugs in Primary Healthcare. Ghana: An Assessment of the Relevance of Herbal Drugs in PHC and Some Suggestions for Strengthening PHC. Amsterdam, Royal Tropical Institute.

Zero DT. In situ models. Adv dent res. 1995;9(3):214-30.

Zero DT. Etiology of dental erosion: extrinsic factors. J Oral. 1996;104(12):162-77.

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

Apêndices

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. (Parte I)

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP
Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O desgaste dentário pode causar problemas estéticos e dor devido à perda de parte do dente que pode ser pequena ou grande. O desgaste pode ocorrer devido ao consumo de alimentos e bebidas ácidas, como refrigerantes, sucos de frutas, ácidos gastrointestinais, disfunções temporomandibular, má oclusão e outros. Estudos para encontrar terapias para a prevenção e para o tratamento do desgaste dentário são necessários.

Para verificar como esses agentes agem, estudos *in situ* tem sido preconizados, pois simulam justamente as condições bucais e os riscos envolvidos podem ser controlados, já que a dose de bebida ingerida é mínima 10ml e o período experimental é curto. Face à necessidade de pesquisa com finalidade de elucidar alguns aspectos envolvidos na erosão o objetivo deste estudo é avaliar o uso de um gel da euclea natalensis sobre blocos de dentes humanos para a prevenção da erosão dentária associada ou não a escovação (fator de abrasão). Para tal será necessário a sua colaboração espontânea na utilização de um aparelho contendo blocos de esmalte e de dentina previamente descontaminados com solução de timol a 2% durante um período, pré determinado, seguindo um protocolo detalhado no documento “instruções ao voluntário”. O voluntário deve estar ciente que o não cumprimento das instruções poderá prejudicar os resultados da pesquisa. Além disso, a qualquer momento o voluntário poderá requerer mais informações ou até mesmo negar-se a continuar participando da pesquisa, sem qualquer penalidade.

PROCEDIMENTO:

1. exame clínico O exame clínico será realizado com espátula de madeira sob luz natural para detecção de cárie ativa em estágio de cavitação.

2. Avaliação do fluxo salivar O paciente será acomodado em uma cadeira tipo universitário, com assento, espaldar e apoio de mão e solicita-se que cuspa por 5min em recipientes de plástico calibrados. Estes serão pesados em uma balança eletrônica de precisão antes e depois da coleta da saliva, considerando a densidade da saliva 1 para determinação do volume e velocidade da saliva liberada($\text{ml} \backslash \text{min}$)(média de 0,23 a 0,35 $\text{mL} \backslash \text{min}$)

3. preparo dos dispositivos intrabucais Para análise *in situ*, os voluntários deverão ter seus arcos superiores moldados com alginato (Ezact Kromm, Vigodent, rio de Janeiro, RJ, Brasil) para confecção do modelo de gesso pedra (duranit, Chaves S.A. mineração e Ind. fortaleza, CE, Brasil) e do aparelho intrabucal palatino em resina acrílica (Jet, artigos odontológicos clássicos, São Paulo) no qual serão realizados 4 nichos(10mm x 6mm x 3mm) dispostos em 2 fileiras de cada lado(esquerdo e direito) para fixação de 2 espécimes , 4 blocos de esmalte e 4 blocos de dentina, com cera pegajosa kota, os quais ficarão na mesma altura da superfície externa da resina

4. procedimento durante o experimento Durante o uso os voluntários só removerão o aparelho para as principais refeições (café da manhã, almoço, jantar) ocasião em que o aparelho fica envolvido em gaze embebida por água deionizada dentro da caixa plástica fornecida. Os voluntários serão orientados a não ingerirem bebidas, exceto água durante o experimento, a não ser nas horas das refeições, quando não estiverem a usar os aparelhos.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. (Parte II)

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP
Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

5.Procedimento com a placa acrílica: Em horários pré-estabelecidos (10h, 13h, 16h, 19h) os voluntários irão emergir o aparelho em 150ml de Coca-Cola contida em um copo previamente calibrado com o volume exato, durante 5 minutos. Antes de colocar o aparelho na boca os voluntários devem tomar um gole da bebida (10ml) para simular o que ocorre na boca, caso ingerissem a bebida. Em seguida os voluntários do grupo CG aplicarão o gel da euclea durante 4 min, em ambos os períodos experimentais. Os voluntários do grupo SG ficarão com o aparelho na boca durante 1 min, correspondendo ao período de realização da aplicação do gel. Imediatamente após a aplicação do gel (Grupo CG) os voluntários realizarão uma escovação em sentido horizontal do aparelho na fileira marcada durante 1min, nos 2 espécimes de esmalte e dentina localizada na segunda fileira. A primeira fileira será submetida apenas à ação erosiva da bebida.este procedimento devera ser repetido 4 vezes ao dia.

Não haverá qualquer custo para os senhores, referente a esta pesquisa. A responsável por este estudo é a Profa. Dra. Sílvia Helena de Carvalho Sales Peres, do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB), que se encontra à disposição para esclarecer quaisquer dúvidas antes e depois da realização desse estudo (Tel. 14-3235-8256) e para reclamações com Maristela, secretária do Comitê de Ética em Pesquisa da FOB (tel. 14-32358356).

Fica claro que o paciente ou seu representante legal pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa, sem que haja qualquer tipo de represália ou penalização.

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr.(a) _____, portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa do **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**, devidamente explicado pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** concordando voluntariamente *que o(a) seu(sua) filho(a)* _____ participe da pesquisa proposta. Fica claro que o sujeito da pesquisa ou seu representante legal, pode a qualquer momento retirar seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornaram-se confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica). Por estarem de acordo assinam o presente termo.

Data: ____/____/____

Pesquisador ou responsável

Participante da pesquisa

APÊNDICE B – Carta de instruções para o sujeito da pesquisa.**INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS**

1. Todos materiais utilizados não acaretam em custo ao voluntário.
2. Durante o experimento os voluntários deverão escovar os dentes com o dentífrico fluoretado fornecido pela autora do trabalho.
3. A pesquisa será composta por 2 etapas, com duração de 5 dias cada uma e com intervalo de 7 dias entre as mesmas.
4. Os voluntários deverão utilizar um aparelho e só removerão para as principais refeições (café da manhã, almoço e jantar) ocasião em que o dispositivo ficará envolvido em gaze encharcada por água de abastecimento. Em seguida realizarão a higiene bucal e esperarão ao redor de 5 minutos para recolocar o aparelho.
5. Durante uso do aparelho, nenhum tipo de alimento ou bebida poderá ser ingerido, exceto água.
6. Evitar que o dispositivo fique fora da boca por um período prolongado, restringindo-se ao tempo necessário para fazer a alimentação (máximo 1 hora).
7. Realize sua higiene bucal normalmente, utilizando dentífrico habitual, após as refeições, sem o aparelho.
8. Os voluntários deverão imergir em 150ml da bebida (cocacola) fornecida pela autora, durante 5 minutos, nos horários pré estabelecidos (10:00h, 13:00h, 16:00h, 19:00h). Caso não consigam seguir estritamente os horários, os voluntários deverão ter em mente que a imersão da bebida só poderá ser efetuada 5 minutos após as refeições, e que após a imersão o aparelho deverá permanecer na boca pelo menos por 3 horas, para depois executar uma nova imersão.
9. Após a imersão do aparelho na bebida por 5 minutos dar um gole de refrigerante antes de recolocar o aparelho na boca.
10. Deverão passar o gel da euclea natalensis por 1 minuto ou aguardar por 1 minuto com aparelho na boca, dependendo da fase em que estiver.
11. Em seguida vão escovar a segunda fileira horizontal que estará indicada para 1 minuto, na qual há 2 blocos, com 10 movimentos de vaivém, com dentífrico fluoretado sem exercer pressão.
12. Para realizar a escovação os voluntários deverão certificar qual fileira deve ser escovada (1 minuto e 30 minutos). Para haver padronização da amostra, os voluntários serão treinados, em relação a escovação sem força, utilizando porção de dentífrico correspondente a uma sujeira em toda extensão de cerdas e realizando 10 movimentos de vaivém, sem exercer pressão.
13. Uma vez ao dia, antes de dormir os voluntários deverão realizar a desinfecção do aparelho utilizando clorexidina a 0,2% por 2 minutos, sempre respeitando as 2 horas de permanência na boca após a escovação da condição experimental 30 minutos.
14. O bochecho deverá ser realizado após a imersão na bebida e recolocação na boca de forma vigorosa durante 1 minuto.
15. Os voluntários deverão trazer o aparelho assim que termine o período experimental para troca dos blocos e limpeza do aparelho.
16. Quando qualquer material estiver acabando, entrar em contacto com autora para que este seja repostado.
18. Qualquer dúvida entrar em contacto com autora do trabalho, Cheila N. H. Xavier, pelo telefone 88019600 ou reclamação com Maristela secretária do Comitê de Ética da FOB pelo telefone 3206224, 932358357.

Obs: Favor verificar todos dias se os blocos estão em suas lojas e se a proteção de esmalte nas metades dos fragmentos permanecem, caso sejam removidas entrar imediatamente em contacto com a autora.

Anexos

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 7
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (14)3235-8356
mferrari@fob.usp.br

Processo nº 010/2011

Bauru, 5 de abril de 2011.

Senhora Professora,

Informamos Vossa Senhoria que após o envio da documentação solicitada, o projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa ***Avaliação in situ do efeito do gel contendo euclea natalensis na superfície dentária, antes do desafio erosivo seguido ou não da abrasão***, de autoria de Cheila Nilza Hamina Xavier, sob sua orientação, foi novamente analisado e considerado **APROVADO** por este Colegiado, em reunião realizada no dia **30 de março de 2011**.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Flávio Augusto Cardoso de Faria
Coordenador

Profª Drª Sílvia Helena de Carvalho Sales Peres

Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva