Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo

Lauren Oliveira Lima Bohner

Ação do enxaguatório bucal à base de Casearia sylvestris e Clorexidina 0,12% na cor e rugosidade superficial do esmalte dental submetido ao clareamento caseiro e bebida alimentícia ácida

Ribeirão Preto

2013

Lauren Oliveira Lima Bohner

Ação do enxaguatório bucal à base de Casearia sylvestris e Clorexidina 0,12% na cor e rugosidade superficial do esmalte dental submetido ao clareamento caseiro e bebida alimentícia ácida

**Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo para obtenção do
título de Mestre em Odontologia.**

**Área de Concentração: Reabilitação Oral
Orientador (a): Prof. Dra. Alma Blásida
Concepción Elizaur Benitez Catirse
Versão corrigida**

**Ribeirão Preto
2013**

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL
DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU
ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE
CITADA A FONTE.**

Bohner, Lauren Oliveira Lima

Ação do enxaguatório bucal à base de Casearia sylvestris e Clorexidina 0,12% na cor e rugosidade superficial do esmalte dental submetido ao clareamento caseiro e bebida alimentícia ácida. Ribeirão Preto, 2013.

86 pg: i1: 30 cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Reabilitação Oral.

Versão corrigida da Dissertação. A versão original se encontra disponível na Unidade que aloja o Programa.

Orientador: Catirse, Alma Blásida Concepción Elizaur Benitez

1.Enxaguatório bucal. 2. *Casearia sylvestris* 3. Alteração de cor. 4. Rugosidade superficial

FOLHA DE APROVAÇÃO

NOME: BOHNER, Lauren Oliveira Lima

TÍTULO: Ação do enxaguatório bucal à base de Casearia sylvestris e Clorexidina 0,12% na cor e rugosidade superficial do esmalte dental submetido ao clareamento caseiro e bebida alimentícia ácida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora:

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

Nome: Lauren Oliveira Lima Bohner

Data de nascimento: 22/12/1987

Filiação:

Pai: João Augusto Muller Bohner

Mãe: Ilse May Nothen Oliveira Lima

Graduação

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Período: 2007 - 2012

DEDICATÓRIA

Dedico, principalmente aos meus pais, Ilse e João,
às minhas irmãs, Tanny e Luana; e a todos aqueles
que participaram de forma direta ou indireta
na realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Deus** pela dádiva da vida, e por iluminar o meu caminho durante toda a minha jornada.

Aos meus avós, **Marli Nothen** e **Sidney Joel**, pelos ensinamentos de amor e bondade. Agradeço, ainda, por estimularem a minha educação e confiarem no meu esforço, permitindo a concretização de meus projetos e sonhos.

Aos meus pais, **João Augusto Bohner** e **Ilse May Lima**, por estarem presentes, mesmo na distância, em todos os momentos da minha vida. Por me ensinarem a superar dificuldades e lutar pelos meus sonhos, sempre acreditando em minha capacidade. Pelo apoio, conforto e amor para que eu superasse os momentos de fragilidade. Agradeço à sua doação por inteiro e por todas as vezes em que renunciaram de seus próprios sonhos para que eu pudesse realizar os meus.

À minha irmã, **Tanny Bohner**, pela sua bondade, preocupação, carinho, amor e dedicação. Por me mostrar o melhor caminho e acompanhar os meus passos. À minha irmã, **Luana Goulart**, pela sua pureza e ingenuidade, e por manter viva a criança que existe dentro de mim. Obrigada por dividir comigo tempos de alegrias, tristezas, ganhos, perdas, choros e risadas.

Ao meu namorado **Bruno Marció**, por me mostrar o significado do amor, companheirismo e fidelidade. Pelo apoio nas horas difíceis e pelas experiências incríveis que vivenciamos juntos.

A todos **meus amigos**, aqueles que o destino nos separou, e às novas amizades que construí nesta jornada, por estarem comigo sempre que eu precisei e por tudo o que vivemos juntos

À amiga **Ana Paula Terossi de Godoi**, pelo carinho, auxílio e amizade. Pela conforto e orientação nas dificuldades, pelas risadas e momentos de prazer.

Agradeço, principalmente, à minha orientadora e amiga, **Alma Blásida Concepción Elizaur Benitez Catirse**, por toda compreensão, competência, paciência, e ensinamentos que me fizeram crescer como profissional e como pessoa. Por me acolher e trazer ensinamentos que levarei por toda a vida.

Ao professor **Rubens Albuquerque**, pela excelente recepção no Canadá, por compartilhar comigo seu conhecimento e sempre estar disposto a me auxiliar.

À professora **Carolina Patrícia Aires**, pelo tanto que me auxiliou na realização deste trabalho e na minha formação acadêmica.

Ao professor **Wilson Matsumoto** e ao colega **Danilo Maeda**, por darem a oportunidade de que eu pudesse aperfeiçoar a vivência e o conhecimento clínico. Às professoras **Cláudia Helena Lovato**, **Camila Tirapelli** e **Fátima Jurca**, pela bondade e paciência que tornaram cada dia de clínica um imenso aprendizado.

À professora **Silmara Aparecida Milori Corona**, pelos ensinamentos que permitirão a publicação deste e de tantos outros trabalhos.

Aos profissionais **Edson**, **Ricardo**, **Ana Paula** e **Viviane**, que tanto me auxiliaram na realização deste trabalho.

À todos aqueles que, de alguma forma, fizeram parte desta jornada e que me fizeram estar aqui hoje, muito obrigada.

BOHNER, LOL. Ação da Clorexidina e do enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* na cor e rugosidade superficial do esmalte dental bovino submetido ao clareamento caseiro e bebida alimentícia ácida. Ribeirão Preto, 2013. 86p. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

RESUMO

Enxaguatórios bucais podem ocasionar a alteração de cor do elemento dental, devido à desmineralização ocasionada pelo uso prolongado dos mesmos, e consequente aumento da rugosidade superficial. Outros fatores, como o clareamento caseiro e o consumo diário de bebidas ácidas são, da mesma forma, responsáveis pela dissolução do esmalte dental. Buscando superar os efeitos adversos da Clorexidina 0,12%, desenvolveu-se um enxaguatório bucal à base de uma planta medicinal, denominada *Casearia sylvestris*. O presente estudo teve como objetivo avaliar a ação dos enxaguatórios bucais à base de *Casearia sylvestris* e Clorexidina 0,12% na cor e rugosidade superficial do esmalte dental submetido a agente clareador e bebida alimentícia de pH 2,4. Amostras de dentes bovinos foram divididas em 3 grupos (n= 30), de acordo com a solução utilizada: Água destilada, Clorexidina 0,12% e Enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris*. Cada grupo foi ainda dividido em subgrupos, de acordo com as categorias (n=10): Grupo controle, dentes clareados e dentes submetidos à imersão em bebida alimentícia ácida. O clareamento caseiro foi realizado com peróxido de carbamida 16%, por 6 horas diárias durante 8 dias, enquanto a imersão em suco de limão (pH 2,4) foi realizada por 2 minutos cada, 1 vez ao dia, durante 6 dias. Posteriormente, os grupos tiveram seus corpos de prova imersos nas respectivas soluções por 2 minutos, 3 vezes ao dia, durante 7 dias. As leituras de cor e rugosidade superficial foram realizadas anteriormente ao período experimental e após a imersão nos enxaguatórios bucais. A análise dos resultados foi realizada através dos testes estatísticos ANOVA - II way e Teste de Tukey 5%. Os dentes submetidos ao clareamento caseiro e à imersão em

bebida ácida apresentaram uma maior alteração de cor. As diferentes soluções não apresentaram diferença estatística quanto à alteração de cor. A rugosidade superficial foi maior para o período de 7 dias, sendo que apenas o grupo submetido à imersão em bebida ácida apresentou um aumento significativo na rugosidade superficial. Foi possível concluir que apenas o clareamento caseiro e a imersão em bebidas ácidas promoveram alteração na coloração da estrutura dental. Não houve influência dos enxaguatórios bucais utilizados isoladamente ou em associação com os tratamentos na rugosidade superficial. Apenas a imersão em bebida ácida ocasionou aumento na rugosidade superficial.

Palavras – chave: 1. Enxaguatório bucal. 2. *Casearia sylvestris*. 3. Alteração de cor. 4. Rugosidade superficial

BOHNER, LOL. Action of Chlorhexidine and a mouthwash containing *Casearia sylvestris* in color and surface roughness of the dental enamel submitted to home bleaching and acid drink. Ribeirão Preto, 2013. 86p. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

ABSTRACT

Mouthwashes can induce the tooth color alteration, due to the desmineralization occurred by the prolonged use of them and consequent increase of surface roughness. Another factors, as the home bleaching and the daily consumption of acid drinks are, in the same way, responsible for the dental enamel dissolution. Attempting to overcome the Chlorhexidine 0,12% adverse effects, it was developed a mouthwash containing a medical plant, denominated as *Casearia sylvestris*. The aim of this study was to evaluate the action of a mouthwash containing *Casearia sylvestris* and Chlorhexidine 0,12% on color and surface roughness from the dental enamel submitted to bleaching gel and a drink with pH 2,4. Bovine teeth samples were divided in 3 groups (n=30), according to the solution: distilled water, Chlorhexidine 0,12% and a mouthwash containing *Casearia sylvestris*. Each group was divided in subgroups, according to the categories (n=10): Control group, bleached teeth and teeth immersed in an acid drink. The bleaching procedure was realized with carbamide peroxide 16%, during 6 hours by 8 days, while the acid drink immersion was done during 2 minutes each, once in a day and during 6 days. Posteriorly, the samples were immersed on the respective solutions by 2 minutes, three times at a day, during 7 days. The color and surface roughness lecture were performed before the experimental period and after the immersion on mouthwashes. The data were analyzed by two-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test. The teeth submitted to home bleaching and to the immersion in acid drink showed higher color alteration. At the group with no

treatment was applied, the mouthwash containing *Casearia sylvestris* induce the highest color alteration when compared with the other solutions, and that was statistically equal when the teeth were submitted to different treatments. The surface roughness was higher to the 7 days period, although the only the group submitted to the immersion in acid drink presented a significant enhance on surface roughness. In conclusion, only the bleaching and the immersion in acid drinks promoted a higher color alteration. The mouthwashes did not promoted an alteration on the color of the dental structure. There was no influence from mouthwashes utilized when isolated or in association with the treatments on surface roughness. Only the immersion in acid drink caused an increase on surface roughness.

Key – words: 1. Mouthwashes. 2. *Casearia sylvestris*. 3. Color alteration.
4. Surface roughness

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Corpos de prova	41
Figura 2. Fluxograma.....	43
Figura 3. Confeção dos corpos de prova.....	45
Figura 4. Espectrofotômetro.....	47
Figura 5. Rugosímetro.....	48
Figura 6. Microscópio Eletrônico de Varredura.....	49
Figura 7. Microscopia Eletrônica de Varredura (Superfície desnivelada, aumento em 300x).....	63
Figura 8. Microscopia Eletrônica de Varredura (Superfície desnivelada, aumento em 1000x).....	64
Figura 9. Microscopia Eletrônica de Varredura (Superfície lisa, aumento em 300x).....	64
Figura 10. Microscopia Eletrônica de Varredura (Superfície lisa, aumento em 1000x.).....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Teste de aderência à Curva Normal: Valores em logaritmo do parâmetro ΔE^*	49
Tabela 2. Análise de Variância: Valores convertidos em logaritmo do Parâmetro ΔE^*	50
Tabela 3. Médias do parâmetro ΔE^* para o fator Tratamento.....	50
Tabela 4. Médias do parâmetro ΔE^* para o fator Solução.....	51
Tabela 5. Médias do parâmetro ΔE^* para Tratamento x Solução.....	53
Tabela 6. Teste de aderência à curva normal: Rugosidade superficial.....	54
Tabela 7. Análise de variância: Rugosidade superficial.....	55
Tabela 8. Média de rugosidade superficial para o fator Tratamento.....	55
Tabela 9. Média de rugosidade superficial para o fator Solução.....	56
Tabela 10. Médias de rugosidade superficial para o fator Tempo.....	57
Tabela 11. Média de rugosidade superficial para Tempo x Solução.....	58
Tabela 12. Média de rugosidade superficial para Tempo x Tratamento..	60
Tabela 13. Médias de rugosidade superficial para Tempo x Solução...	61

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Média do parâmetro ΔE^* para o fator Tratamento.....	51
Gráfico 2. Média do parâmetro ΔE^* para o fator Solução.....	52
Gráfico 3. Média do parâmetro ΔE^* para o fator Tratamento x Solução.....	53
Gráfico 4. Média de rugosidade superficial para o fator Tratamento.....	56
Gráfico 5. Média de rugosidade superficial para o fator Solução.....	57
Gráfico 6. Média de rugosidade superficial para o fator Tempo.....	58
Gráfico 7. Média de rugosidade superficial para Tratamento x Solução.....	59
Gráfico 8. Média de rugosidade superficial para Tempo x Tratamento.....	60
Gráfico 9. Média de rugosidade superficial para Tempo x Solução.....	61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Materiais utilizados para o Tratamento.....**40**

Quadro 2. Enxagatórios bucais.....**40**

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1	Antissépticos bucais.....	23
2.2	Alterações superficiais do esmalte dental em dentes submetidos ao clareamento caseiro	25
2.3	Alterações superficiais do esmalte dental em dentes submetidos à imersão em soluções ácidas.....	29
2.4	Uso de Fitoterápicos na Odontologia.....	30
2.5	<i>Casearia sylvestris</i>	33
3	PROPOSIÇÃO.....	35
4	MATERIAL E MÉTODO.....	37
2.5	Materiais e instrumentos.....	38
2.6	Delineamento experimental.....	41
2.7	Delineamento Estatístico.....	42
2.8	Métodos.....	43
2.8.1	Obtenção dos corpos de prova.....	44
2.8.2	Confecção da moldeira de clareamento e aplicação do gel clareador.....	45
2.8.3	Imersão em bebida alimentícia ácida.....	46
2.8.4	Imersão nos enxaguatórios bucais.....	46
2.8.5	Leituras de cor.....	46
2.8.6	Leitura da Rugosidade Superficial.....	47
2.8.7	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	48
5	RESULTADOS.....	50
5.1	Alteração de cor.....	51
5.2	Rugosidade superficial.....	55
5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	63
6	DISCUSSÃO.....	65

7 CONCLUSÃO.....	72
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
ANEXOS.....	83
Anexo A – Dados de alteração de cor (ΔE^*).....	84
Anexo B - Teste de normalidade: parâmetro ΔE^* (valores originais).....	85
Anexo C - Média dos valores originais: ΔE^*.....	86
Anexo D – Dados da rugosidade superficial.....	87

Introdução

1. Introdução

O controle do biofilme cariogênico é realizado por meio de métodos convencionais de higiene bucal (CORDEIRO et al., 2006; MOREIRA et al., 2009) e soluções que atuam de forma coadjuvante, inibindo o crescimento e desenvolvimento da placa bacteriana (TELES & TELES, 2009). O uso de enxaguatório bucal é o meio mais simples de veicular substância antimicrobiana, possibilitando o controle do crescimento do biofilme dental (KUMAR et al., 2012).

O enxaguatório bucal tem sua ação por meio da associação de um produto ativo com água, álcool, surfactantes, umectantes e flavorizantes (MOREIRA et al., 2009). É recomendado principalmente para pacientes com alto risco à cárie, usuários de ortodontia fixa e pacientes com falta de coordenação mecânica (DRUMMOND et al., 2004). Um antisséptico ideal deve incluir estabilidade, baixa tensão superficial, poder antimicrobiano e ausência de toxicidade. No entanto, não há disponível no mercado um produto que possa ser considerado ideal, o que justifica os efeitos adversos apresentados por alguns enxaguatórios (MOREIRA et al., 2009).

A clorexidina é considerada o *gold-standard* dos enxaguatórios bucais, pois tem mostrado a maior efetividade dentre os produtos disponíveis no mercado odontológico, atuando contra bactérias gram – positivas, gram – negativas, fungos e vírus. A ação da clorexidina está no seu potencial de se ligar à parede celular bacteriana, mostrando ação bactericida quando em altas concentrações e bacteriostática em baixas doses (ZANATTA et al., 2010; RODRIGUES et al., 2011).

Entretanto, seu uso em longo prazo não é recomendado, por possuir efeitos adversos como manchamento de dentes, língua e restaurações, alterações de gosto, sensação de queimadura e irritação da mucosa (KUMAR et al., 2012). O manchamento dos dentes causado pelo uso da clorexidina ocorre pela precipitação de corantes da dieta (ADDY et al., 1995), quando aldeídos e cetonas presentes nos alimentos reagem com o produto, formando

elementos corados (ZANATTA et al., 2010; MOREIRA et al., 2013).

Da mesma forma, outros antissépticos bucais podem causar a alteração de cor do elemento dental, devido à desmineralização do esmalte ocorrida após o uso prolongado dos mesmos (MOREIRA et al., 2013) e consequente aumento da rugosidade superficial (PINTO et al., 2004; ZANET et al., 2010) . Assim como o uso dos enxaguatórios bucais, a desmineralização do elemento dental ocorre em decorrência de outros fatores, como o clareamento caseiro (TANAKA et al., 2010) e o consumo de bebidas ácidas (ZANET et al., 2010).

O clareamento dental caseiro é um tratamento conservador (WANG et al., 2011) amplamente empregado para clarear a estrutura dental, através do uso de peróxido de carbamida, disponível em concentrações que variam de 6 à 20% (SILVA COSTA et al., 2009). Embora estudos tenham demonstrado que o clareamento caseiro é uma técnica segura no que diz respeito à sua ação sobre a estrutura dentária (CHO et al., 2009), não há relatos suficientes associando o procedimento com o uso de enxaguatórios bucais.

A ingestão de soluções com pH baixo leva à dissolução do esmalte dental devido ao processo erosivo causado pelos ácidos presentes na formulação do produto (ZANET et al., 2010; LUSSI et al., 2011). A erosão dental é um fenômeno irreversível cada vez mais comum (FRANCISCONI et al., 2008; SOARES et al., 2012), e um dos principais fatores responsáveis pelo desgaste do elemento dentário (SOARES et al., 2012). O processo erosivo envolve a dissolução química de tecido dental duro (FRANCISCONI et al., 2008; SOARES et al., 2012; YU et al., 2009) por meio de ácidos provenientes de fatores extrínsecos e intrínsecos, porém, sem o envolvimento bacteriano (SOARES et al., 2012) , sendo a dieta o principal responsável dentre os fatores exógenos (LUSSI et al., 2011).

Buscando superar os efeitos adversos causados por produtos sintéticos, material de origem vegetal tem sido utilizado para a higiene oral (DRUMOND et al., 2004). Assim, a associação entre plantas medicinais e colutórios bucais é proposta por vários estudos, devido ao potencial antimicrobiano presente em diversos fitoterápicos. Seu uso tem tido um grande destaque na área da saúde

por ser economicamente viável (CORDEIRO et al., 2006) e seguro (ASSIS, 2009).

A *Casearia sylvestris*, planta medicinal popularmente conhecida como “guaçatonga”, tem ação antisséptica, antiinflamatória (DA SILVA et al., 2004; ASSIS et al., 2009; SPANDRE, 2010), antimicrobiana, cicatrizante e fungicida (DA SILVA et al., 2004; ASSIS et al., 2009). É uma espécie de ampla distribuição geográfica, sendo encontrada especialmente na América do Sul e praticamente em todo o território brasileiro (CAVALLARI, 2008). Na Odontologia, vem sendo estudado o seu uso como medicamento intracanal durante o tratamento endodôntico (DA SILVA et al., 2004) e no tratamento do herpes (DA SILVA et al., 2006). Além disso, pesquisas relatam que o extrato de *Casearia sylvestris* possui ação antimicrobiana contra *S. Mutans* (FARIA JUNIOR, 2005), evidenciando seu uso como componente de antisséptico bucal (GODOI, 2013).

Entretanto, ainda não há pesquisas avaliando os possíveis efeitos de tal antisséptico bucal na estrutura dental e, ainda, não há relatos na literatura associando a ação de demais colutórios bucais com o uso de gel clareador ou consumo de bebidas ácidas. Há necessidade de investigações científicas sobre a ação do enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* e da Clorexidina 0,12% na superfície do esmalte, tanto em dentes íntegros quanto naqueles submetidos ao clareamento dental ou à exposição de bebidas ácidas.

Revisão de Literatura

2. Revisão de Literatura

2.1 Antissépticos bucais

Haffajee et al. (2008) avaliaram o potencial antimicrobiano contra as bactérias orais de diferentes antissépticos bucais: enxaguatório bucal herbal, enxaguatório bucal com óleos essencial e gluconato de clorexidina 0,12%, em sua concentração inibitória mínima. Placas contendo os diferentes produtos e suspensão das bactérias avaliadas foram incubadas anaerobicamente a 35° C e realizada a leitura das placas e interpretação dos dados. O enxaguatório bucal herbal inibiu o crescimento da maioria das bactérias, porém a clorexidina apresentou maior efetividade. O gluconato de clorexidina obteve a menor concentração inibitória mínima dentre os enxaguatórios. Foi possível concluir que o antisséptico herbal foi mais potente que o enxaguatório à base de óleos essenciais para todas as espécies avaliadas. Entretanto, a clorexidina 0,2% é o produto mais efetivo na inibição do crescimento de bactérias orais.

Kocak et al. (2009) avaliaram o efeito de dicloridrato de octenidina, gluconato de clorexidina e enxaguatório enzimático no nível de *S. mutans* na saliva de pacientes com alto índice de cárie, por meio da contagem do número de unidades formadoras de colônia. Foi possível concluir que o dicloridrato de octenidina e gluconato de clorexidina apresentaram efetividade na redução de bactérias *S. mutans*.

Albertsson et al. (2010) verificaram o efeito antimicrobiano de enxaguatórios bucais na placa acidogênica após o contato com sacarose. Vinte participantes utilizaram enxaguatório bucal à base de óleos essenciais, enxaguatório à base de clorexidina sem álcool e água, durante 16 dias cada um, em associação com métodos regulares de higiene. O pH da placa acidogênica foi avaliado no início e no término do período experimental, por meio do uso de microeletrodo. Tanto a clorexidina como o enxaguatório de

óleos essenciais apresentaram uma menor queda do pH , quando comparados ao grupo controle. Os autores concluíram que ambos enxaguatórios avaliados diminuíram a acidogenicidade da placa bacteriana após o contato com a sacarose.

Zanatta et al. (2010) avaliaram o efeito do gluconato de clorexidina 0,12% na alteração de cor e acúmulo de cálculo dentário *in vivo*, comparando áreas com a presença de biofilme dentário e dentes livres de placa dental. Vinte participantes, possuindo 2 quadrantes com acúmulo de biofilme e 2 quadrantes com ausência de biofilme, utilizaram o antisséptico durante 21 dias. Quando comparado à superfície com ausência de placa, os dentes com biofilme aderido obtiveram uma maior alteração de cor e acúmulo de placa. Assim, os autores sugerem que previamente ao uso de gluconato de clorexidina 0,12%, seja realizada a profilaxia para remoção do biofilme dental.

Rodrigues et al. (2011) afirmaram que a bactéria cariogênica *S. mutans*, microrganismo de extrema relevância no desenvolvimento da cárie dental, apresenta maior susceptibilidade ao efeito do gluconato de clorexidina, quando comparada a outras espécies. O menor índice de *S. mutans* no biofilme ocorre devido à mudança promovida na microbiota após o uso de gluconato de clorexidina. Outras espécies bacterianas se desenvolvem no local do *S. mutans*, impedindo que esta se desenvolva novamente de forma rápida, e levando a uma diminuição no índice de cáries.

Moreira et al. (2013) avaliaram a alteração da cor da estrutura dental após o uso de diferentes enxaguatórios bucais durante um tempo prolongado. Para o estudo, dentes bovinos foram divididos em grupos: Grupo Controle, enxaguatório bucal contendo álcool, enxaguatório bucal livre de álcool e Clorexidina. Os dentes foram submetidos a dois ciclos de manchamento e envelhecimento artificial, correspondendo a um período de 7 anos e 9 meses de exposição, durante 1 minuto por dia. A alteração de cor foi avaliada por meio de um espectrofotômetro e caracterizada através do sistema CIE L*a*b*. Apenas o enxaguatório bucal contendo álcool promoveu uma alteração de cor significativa e perceptível clinicamente. Concluiu-se que o antisséptico bucal de coloração azul e contendo álcool em sua composição foi capaz de causar alteração de cor perceptível, após um período prolongado de exposição.

Ennibi et al. (2013) avaliaram o efeito antiplaca de enxaguatórios à base de Clorexidina contendo ou não álcool em sua composição. Trinta voluntários foram divididos em dois grupos, de acordo com o enxaguatório bucal utilizado. Durante sete dias os participantes realizaram sua higiene oral apenas com o uso do antisséptico, realizando bochechos duas vezes ao dia com 15mL de solução. Após o término do período experimental, o índice de placa foi avaliado. O enxaguatório bucal contendo álcool promoveu um menor índice de placa que o produto livre de álcool. Concluí-se que a presença do álcool na solução torna o produto mais eficiente na inibição de placa.

Kumar et al. (2013) avaliaram a efetividade de diferentes enxaguatórios bucais na placa bacteriana, cálculo dentário, gengivite e manchamento, assim como a presença de efeitos adversos durante o uso. Foram utilizados os enxaguatórios Clorexidina 0,2%, associação de Triclosan com fluoreto de sódio e álcool etílico, e associação entre clorexidina, triclosan, fluoreto de sódio e cloreto de zinco. O exame clínico foi realizado para avaliação de placa supragengival, gengivite, cálculo e presença de mancha extrínseca. Foi possível concluir que a Clorexidina 0,2% apresentou uma maior efetividade no controle de placa e gengivite, porém, causou maior deposição de manchas extrínsecas. A maioria dos pacientes reportou ter efeitos adversos durante o período experimental.

2.2 Alterações superficiais do esmalte dental em dentes submetidos ao clareamento

Pinto et al. (2004) avaliaram a alteração da rugosidade superficial, microdureza e morfologia do esmalte dental após a exposição a 4 agentes clareadores. Amostras de dente humano foram divididas em grupos de acordo com o produto utilizado: Peróxido de Carbamida 10% (Whiteness Perfect), Peróxido de Carbamida 10% (Colgate Platinum), Peróxido de Hidrogênio 7,5% (Day White 2Z), Peróxido de Carbamida 35% (Opalescence) e Peróxido de Hidrogênio 35% (Whiteness). Apenas o peróxido de hidrogênio provocou

aumento da rugosidade superficial e alterações morfológicas significantes, porém, todos causaram diminuição na microdureza devido à perda mineral da estrutura dentária. Concluiu-se que o clareamento pode alterar a rugosidade, microdureza e morfologia do esmalte dental.

Markovic et al. (2007) avaliaram alterações na microrugosidade da superfície do esmalte após o clareamento. Incisivos humanos foram divididos em grupos, grupo controle e grupo experimental. O grupo experimental foi submetido ao clareamento com peróxido de carbamida 10% ou 16% durante 4 horas por dias, em um período de 7 dias, então avaliou-se a rugosidade superficial. O grupo experimental, para as diferentes concentrações, apresentou maiores valores de rugosidade superficial. Os autores concluíram que ocorre no esmalte perda de material orgânico, podendo levar a uma descoloração extrínseca recorrente.

Faraoni – Romano et al. (2007) avaliaram a microdureza e a rugosidade superficial do esmalte e dentina radicular clareados com peróxido de carbamida 10%, 15% e 22%. Foram utilizadas amostras de dentina e esmalte bovinos, clareados com peróxido de carbamida em diferentes concentrações. Os géis clareadores foram aplicados diariamente por 2 horas, durante um período de 21 dias. Apenas o peróxido de carbamida 15% diminuiu os valores de microdureza, enquanto nenhum produto alterou significativamente a rugosidade superficial.

Faraoni – Romano et al. (2008) estudaram o efeito de géis clareadores de diferentes concentrações na microdureza e rugosidade superficial do esmalte e dentina radicular bovina. Espécimes bovinos foram divididos em cinco grupos, onde cada grupo corresponde a uma concentração do gel clareador: peróxido de carbamida 10%, peróxido de hidrogênio 7,5%, peróxido de hidrogênio 38%, peróxido de hidrogênio 18% e peróxido de carbamida 22%. A aplicação dos produtos foi realizada durante 21 dias, de acordo com as instruções do fabricante. Para o esmalte bovino, houve aumento da microdureza e diminuição da rugosidade superficial. Para a dentina radicular, houve aumento da microdureza para peróxido de carbamida 10%, enquanto para os outros grupos não houve diferença estatística significativa. Os autores

concluíram que, para a dentina radicular, a perda mineral irá variar de acordo com a concentração do gel clareado, enquanto que para o esmalte, as alterações superficiais não serão dependentes das concentrações.

Adeyemi et al. (2008) demonstraram a tendência do esmalte ao manchamento por clorexidina e chá após o clareamento. Esmaltes de dente bovino foi utilizado para o estudo, e divididos em grupos, com ou sem clareamento. Peróxido de hidrogênio foi aplicado em cada amostra durante 1 hora, e a cor foi avaliada por meio da fluorescência quantitativa. Os dentes foram imersos em saliva artificial, clorexidina e chá, por 2 minutos em cada imersão, e esta foi repetida 5 vezes. Imagens foram tiradas das amostras no fim de cada ciclo, através da fluorescência quantitativa. Os dentes clareados e não clareados não apresentaram diferença estatística na tendência ao manchamento, e os autores concluíram que o clareamento do esmalte não afeta a susceptibilidade do esmalte ao manchamento extrínseco.

Mondelli et al. (2009) avaliaram a rugosidade superficial e desgaste do esmalte bovino submetido a diferentes técnicas de clareamento e posterior escovação. Os corpos de prova de dente bovino foram divididos em grupos, abordando diferentes métodos de clareamento: peróxido de hidrogênio 35% ativados por uma luz híbrida, peróxido de hidrogênio 35% ativados por uma luz halógena e peróxido de carbamida 16%. Após, os dentes foram submetidos à escovação. A rugosidade superficial foi avaliada em três fases: no período inicial, após o procedimento do clareamento e após a escovação. Não houve alteração na rugosidade superficial após o clareamento, apenas após a escovação. Os autores concluíram que o clareamento causa alterações na rugosidade superficial, promovendo aumento da rugosidade e desgaste do esmalte bovino.

Attia et al. (2009) quantificaram a mudança na coloração do esmalte humano e bovino quando expostos ao café durante o período de realização do clareamento caseiro. Amostras de esmalte humano e bovino clareados foram divididas em grupos, de acordo com a imersão ou não dos mesmos na solução de café. O clareamento caseiro foi realizado com peróxido de carbamida 16%, aplicado por 6 horas diariamente, durante um período de 28 dias. A alteração

de cor foi avaliada nos intervalos de 7, 14, 21 e 28 dias, durante o procedimento, e 7, 15 e 30 dias após o tratamento, por meio da análise de fotoreflexância. Não houve alteração significativa entre os dentes clareados e não clareados, e as amostras bovinas obtiveram comportamento semelhante ao dente humano.

Tanaka et al. (2010) investigaram a mudança microestrutural ocorrida na superfície do esmalte após clareamento caseiro e clareamento de consultório. Os autores utilizaram peróxido de carbamida 10% e peróxido de hidrogênio 35% para o tratamento caseiro e de consultório, respectivamente. A análise foi realizada por meio da visualização de sua morfologia e quantificação da perda mineral. Os autores concluíram que o clareamento caseiro provocou alteração de cor através da desmineralização, enquanto para o clareamento de consultório ocorreu redistribuição dos minerais seguida de aumento na mineralização.

Liporoni et al. (2010) estudaram a susceptibilidade do esmalte dental clareado ao manchamento com café e vinho tinto em diferentes períodos após o clareamento com peróxido de hidrogênio 35%. O manchamento foi maior apenas para o vinho tinto, e não foram observadas diferenças na coloração após os diferentes períodos de tempo. Foi possível concluir que o esmalte dental clareado foi mais susceptível ao manchamento com vinho tinto, enquanto o café não interferiu no resultado do clareamento.

Abouassi et al. (2011) avaliaram a influência de géis clareadores peróxido de carbamida e de hidrogênio em diferentes concentrações sobre a microdureza e rugosidade superficial em esmalte bovino mantido em saliva artificial. Concluíram que os géis clareadores podem influenciar a dureza e a morfologia do esmalte em função da maior concentração utilizada.

Hilgenberg et al. (2011) avaliaram o efeito de dentifrícios clareadores na rugosidade superficial do esmalte bovino após aplicação de peróxido de carbamida 16%. A rugosidade superficial aumentou após a realização dos procedimentos, embora não tenha sido encontrada diferença estatística entre os diferentes dentifrícios avaliados. Os autores concluíram que o uso de agente clareador provavelmente provocou mudanças na superfície do esmalte dental.

De Vasconcelos et al. (2012) avaliaram o efeito dos géis clareadores peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida em diferentes concentrações, quando em associação com a pasta à base de caseína – fosfato de cálcio amorfo, nas propriedades superficiais do esmalte clareado após o manchamento com vinho tinto e chá preto. A microdureza e a rugosidade superficial das amostras foram avaliadas, e a morfologia do esmalte foi avaliada através da microscopia eletrônica de varredura. A associação da pasta à base de caseína – fosfato de cálcio amorfo com os peróxidos aumentou a microdureza e a rugosidade superficial do esmalte, devido à deposição mineral observada na microscopia. Os autores concluíram que o uso da pasta associada com peróxido de carbamida ou hidrogênio pode diminuir os efeitos adversos do clareamento na superfície do esmalte.

Ogura et al. (2013) analisaram *in vitro* a desmineralização ocorrida após clareamento caseiro e clareamento de consultório. Os produtos clareadores foram aplicados durante 2 horas cada dia, por um período de 7 dias. O volume mineral dos dentes submetidos ao clareamento caseiro diminuiu, enquanto os dentes onde realizou-se o clareamento de consultório tiveram sua densidade aumentada. Os autores concluíram que o clareamento realizado no consultório é preferível ao clareamento caseiro, considerando a integridade da superfície de esmalte durante a desmineralização.

2.3 Alterações superficiais do esmalte dental em dentes submetidos à imersão em soluções ácidas

Nekrashevych e Stosser (2003) estudaram a erosão dental em dentes bovinos ocasionada pelo ácido cítrico 0,1% e 1%, e o potencial protetor da película adquirida formada pela saliva artificial, por meio da liberação de cálcio, microdureza e rugosidade superficial. A microdureza diminuiu após 1 minuto de imersão ao ácido cítrico 0,1%, e a película adquirida teve um efeito protetor na perda da microdureza e reduziu o aumento da rugosidade superficial. Os

autores concluíram que a película adquirida é capaz de proteger a superfície do esmalte contra a erosão causada por ácidos orgânicos.

Wiegand et al. (2008) verificaram o papel da película adquirida na proteção do dente submetido à erosão com ácido clorídrico, cítrico ou fosfórico. Amostras de dentes bovinos permaneceram na cavidade bucal de voluntários durante 2 h para a formação da película adquirida. Em seguida, as amostras foram imersas nas respectivas soluções e avaliadas quanto à liberação de Cálcio por meio da Espectroscopia de Absorção Atômica. A película adquirida protegeu os dentes nas diferentes soluções. Concluiu-se que a película adquirida oferece maior proteção ao esmalte que à dentina, sendo esta invariável em relação às diferentes soluções.

Zanet et al. (2010) avaliaram a rugosidade superficial do esmalte dental bovino após desmineralização com suco em pó “light”, bebida à base de cola light sabor limão e suco de limão pasteurizado. A imersão ocorreu por 10 minutos durante 7 e 14 dias consecutivos, períodos em que a rugosidade superficial foi avaliada. O suco em pó light apresentou maior rugosidade superficial em relação às outras bebidas. A média dos valores aumentou após 14 dias, em relação ao período de 7 dias. Os autores concluíram que todos os produtos aumentaram a rugosidade superficial, especialmente o suco em pó light. O período de exposição foi diretamente proporcional ao aumento da rugosidade superficial.

2.4 Uso de Fitoterápicos na Odontologia

Da Silva et al. (2004) avaliaram o potencial irritativo do própolis, *Casearia sylvestris*, Otosporin e soro fisiológico na região intradérmica de ratos. Ratos machos winstar foram injetados com corante Evans e, posteriormente, com 0,1mL das devidas soluções. Os animais foram sacrificados em meia, uma, três e seis horas após os procedimentos. As amostras da região foram retiradas e avaliadas em um espectrofotômetro. A quantidade de corante extraído indica o pico do processo inflamatório. Não

houve diferença significativa nos períodos de 3 e 6 horas entre as soluções. Nos períodos de meia e uma hora houve diferença estatística entre a *Casearia sylvestris*, própolis com as outras substâncias. A própolis provocou menor inflamação em relação à *Casearia sylvestris*, porém, ambos são indicados para o uso como medicamento intracanal.

Drumond et al. (2004) analisaram a atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos encontrados no mercado frente a bactérias cariogênicas. As bactérias *S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. sanguis* e *L. casei* foram cultivadas em meio de cultura Ágar Mueller Hinton. Os produtos Água Rabelo; Malvatricin; Mel Rosado; Apis Flora; Fitogargarejo e Óleo de Copaíba foram utilizados em concentrações de 100% e 0,19%, e o halo de inibição foi mensurado. Dentre os produtos avaliados, apenas o primeiro não apresentou atividade antibacteriana, e o Malvatricin apresentou os melhores resultados frente a diferentes linhagens bacterianas.

Cordeiro et al. (2006) desenvolveram um enxaguatório bucal com associação das plantas *R. officinalis* (Alecrim), *P. major* (Tanchagem), *T. impetiginosa* (Ipê-roxo), *A. millefolium* (Mil-folhas) e *N. officinale* (Agrião), e avaliaram a ação antibacteriana frente a espécies patogênicas de cada extrato e do enxaguatório em si. Para a avaliação antimicrobiana, foram utilizadas as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Todos os extratos apresentaram ação bactericida eficiente sobre bactérias gram – positivas, especialmente contra as bactérias *S. aureus* e *B. subtilis*. A concentração inibitória mínima variou para cada espécie bacteriana, para os produtos isolados e para o enxaguatório bucal. Os autores concluíram que há necessidade de maiores estudos com o produto para sua utilização contra as doenças periodontais.

Oliveira et al. (2007) realizaram um levantamento bibliográfico sobre as principais espécies vegetais utilizadas no tratamento odontológico. Os dados foram organizados em uma tabela, de acordo com o nome científico, popular, família, parte utilizada e forma farmacêutica. Foram encontradas 132 espécies utilizadas em afecções odontológicas, sendo as principais *Punica granatum*, *Althaea officinalis*, *Salvia officinalis*, *Calendula officinalis*, *Malva*

sylvestris e *Plantago major*.L. Por meio do presente estudo, foi possível contribuir para as futuras pesquisas com fitoterápicos em uso odontológico.

De Castilho et al. (2013) avaliaram o potencial bactericida de 25 extratos de planta contra a bactéria facultativa *E. faecalis*, encontrada em cáries, doença periodontal e lesão endodôntica. Destes, sete extratos foram ativos contra a bactéria, sendo que 6 atuaram inibindo a formação de biofilme.

Feng et al. (2013) pesquisaram a ação de flavonóides presentes na uva-do-monte na arquitetura do biofilme, e a resposta do *S. mutans* frente ao biofilme. O biofilme de *S. mutans* foi formado em superfícies contendo saliva com cristais de hidroxiapatita, e a imersão na solução ocorreu durante 60s, duas vezes ao dia e analisadas em microscopia confocal a laser. Os genes responsáveis pela adesão da bactéria na presença de sacarose foram inibidos, diminuindo o volume de polissacarídeos extracelulares e bactérias aderentes e, conseqüentemente, alterando a estrutura no biofilme cariogênico. Os autores demonstraram que um flavonóide específico presente na composição da uva-do-monte pode romper o biofilme dental.

Jeong et al. (2013) isolaram um componente da planta *A. continentalis* e verificaram sua influência no desenvolvimento do biofilme, produção de ácido, crescimento e adesão de bactérias *S. mutans*. A produção de ácido foi realizada através da avaliação do pH, e o crescimento do biofilme foi verificado através do corante safranina 0,1%. A análise Reação em cadeia da Polimerase (PCR) foi realizada para avaliar a influência do produto sobre células viáveis e na produção de fatores de virulência. O componente interferiu no crescimento do biofilme e produção de ácidos, diminuiu a viabilidade de bactérias e a produção de fatores de virulência. A planta *A. continentalis* mostrou atividade adequada para inibição de *S.mutans*.

2.5 *Casearia sylvestris*

Esteves et al. (2005) investigou as ações anti-inflamatória e antigástrica do óleo essencial obtido da folha da *Casearia sylvestris* em ratos, através dos fatores: edema na pata, formação de tecido granulomatoso, permeabilidade vascular, contorção úlcera gástrica induzida por stress e avaliação da secreção gástrica. Utilizando a cromatografia iônica encontrou os seguintes componentes: cariofileno, sesquiterpeno, alfa-humuleno, beta-acoradieno, germacreno-d, biciclogermacreno, calamenene, germacreno B, espatulenol e globulol. Os autores concluíram que as folhas da *Casearia sylvestris* possuem ação anti-inflamatória e antigástrica, provavelmente pela ação de terpenos.

Da Silva et al. (2006) avaliaram as alterações neurológicas causadas pelo extrato aquoso obtido das folhas da *Casearia sylvestris*. Foram administrados 20mg/kg de extrato aquoso por via oral, e então foi avaliada a presença das enzimas NTPDase, Nucleotidase, Na⁺/K⁺-ATPase e acetilcolinesterase. A inibição das enzimas Nucleotidase e Na⁺/K⁺-ATPase, assim como a redução da degradação da acetilcolinesterase demonstrou as alterações neuroquímicas ocorridas no sistema nervoso central após o uso da planta.

Da Silva et al. (2008) estudaram o potencial antimicrobiano do extrato de etanol obtido a partir das folhas de *Casearia sylvestris*, assim como os componentes responsáveis pela ação antimicrobiana e antifúngica. As bactérias *E. faecalis* e *S. Aureus* foram os microrganismos com maior sensibilidade ao produto, enquanto as bactérias gram – negativas mostraram uma sensibilidade reduzida. Os fungos *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. guilliermondii* foram sensíveis apenas para o componente hidrofóbico. Concluiu-se que a *Casearia sylvestris* apresenta um potencial antimicrobiano adequado, principalmente contra bactérias gram – positivas.

Duarte et al. (2009) avaliaram o pH e a liberação de cálcio da pasta de hidróxido de cálcio associada à clorexidina, *Casearia sylvestris* ou propileno glicol. A liberação de cálcio foi avaliada por meio de um espectrofotômetro de absorção atômica, e para a leitura do pHmetro. O composto não interfere na

mudança de pH e liberação de Ca da pasta de hidróxido de cálcio, entretanto, mais estudos são necessários para avaliar sua citotoxicidade na pasta.

Prieto et al. (2013) verificaram o efeito quimiopreventivo da casearina B presente na *Casearia sylvestris* contra o dano no DNA de células hepáticas, através do teste de Ames, Ensaio Cometa e Ensaio antioxidante com DCFDA. A casearina demonstrou proteção ao dano celular quando em baixas concentrações, porém, em altas concentrações foi genotóxica.

Proposição

3. Proposição

Avaliar a ação da Clorexidina 0,12% e enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* e na cor e rugosidade superficial do esmalte dental bovino submetido a agente clareador e bebida alimentícia com pH 2,4.

Material e Método

4 Material e Método

4.1 Materiais e equipamentos

Para o presente estudo foram selecionados os materiais e equipamentos descritos a seguir. A composição dos produtos utilizados encontra-se nos Quadros 1 e 2.

- 90 incisivos centrais bovinos hígidos, mantidos em solução de formol à temperatura de 4°C (DOMINICI et al., 2001), para obtenção dos corpos de prova conforme a Figura 1.

- Cortadeira elétrica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Alemanha)
- Disco diamantado (15HC, Buehler, Alemanha)
- Copos plásticos com 5 cm de diâmetro
- Resina acrílica (Clássico, Clássico Ind. E Com., São Paulo, SP, Brasil)
- Furadeira de bancada (Schulz, Santa Catarina, Brasil)
- Broca diâmetro 08
- Politriz (Struers, Denmark)
- Lixas de carbetto de silício na sequência de granulação 320, 600 e 1.200
- Paquímetro digital (Mitutoyo Sul-americana, Suzano, Brasil).
- Espectrofotômetro portátil (X-Rite SP62S, São Paulo, Brasil) Obtido com Projeto FAPESP – Proc. 2012/08185-7

- Rugosímetro SJ-201 P/M
- Peróxido de carbamida 16% (Whiteness Perfect, Santa Catarina, Brasil)
- Suco de Limão concentrado Realemon (pH 2,4)
- Clorexidina 0,12% (Periogard)
- Enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris*.

Quadro 1. Produtos utilizados para os tratamentos: clareamento caseiro e imersão em bebida ácida.

Solução	Composição	Fabricante
Peróxido de carbamida 16%	Peróxido de Carbamida 16%, Fluoreto de sódio, Nitrato de potássio. pH neutro.	Whiteness Perfect 16% (Joinville, Santa Catarina, Brasil)
Suco de Limão	Suco de limão concentrado, água mineral, benzoato de sódio, metabisulfito de sódio, sulfito de sódio, óleo de limão. pH 2,4 (informado pelo fabricante).	ReaLemon (Dr Pepper Snaple Group, Canadá)

Quadro 2. Enxaguatórios bucais empregados no estudo.

Solução	Composição
Gluconato de clorexidina 0,12% (Periogard, Colgate, São Paulo, Brasil)	Gluconato de Clorexidina 0,12%, água, glicerina, etanol, polisorbato 20, composição aromática com sabor predominante de menta, sacarinato de sódio.
Enxaguatório a base do óleo essencial da <i>Casearia sylvestris</i>	Óleo essencial de <i>Casearia sylvestris</i> , nipagin, óleos essenciais, etanol, água destilada.

Figura 1. Corpos de prova (A) de dentes bovinos (B) utilizados no estudo.

4.2 Delineamento experimental

Para o estudo das variáveis: alteração de cor e rugosidade superficial, foi realizado um plano piloto para o delineamento da pesquisa e adequação da técnica, a fim de determinar os fatores de interesse e controlar aqueles que não interessarem ao estudo proposto.

Os fatores em estudo foram a *Solução* e *Tratamento*, descritos com suas respectivas siglas e diferentes níveis, a seguir:

A - Fator Solução para bochecho (S) – com 3 níveis:

S₁ - Água destilada (Controle)

S₂ –Gluconato de Clorexidina 0,12%

S₃ - Enxaguatório bucal com o óleo essencial de *Casearia sylvestris*

B – Fator Tratamento (Tr) – com 3 níveis:

Tr₁ – Grupo controle

Tr₂ – Clareamento caseiro

Tr₃ – Imersão em bebida ácida

C - Fator Tempo (Tp) - com 2 níveis:

Tp₀ – Início do período experimental, após a confecção dos corpos de prova

Tp₇ – 7 dias após o término do período experimental

As variáveis de respostas contínuas foram:

- A. Alteração de cor (ΔE^*)
- B. Rugosidade superficial (R_a)

Para o grupo controle (Tr_1), o qual não foi submetido a nenhum tratamento, obteve-se a imagem com caráter ilustrativo de 1 corpo de prova para cada solução (S_1 , S_2 e S_3), por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

4.3 Delineamento Estatístico

Os 90 corpos de prova foram divididos aleatoriamente em 3 grupos de 30, de acordo com o tratamento realizado: Grupo Controle (Tr_1), clareamento caseiro (Tr_2) e dentes submetidos à imersão em bebida alimentícia ácida (Tr_3). Cada grupo foi subdividido ($n=10$) de acordo com o tratamento realizado: água destilada (S_1), gluconato de clorexidina 0,12% (S_2) e enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* (S_3).

Para a variável alteração de cor, foi estabelecido a realização de 2 leituras (1 leitura inicial e 1 após 7 dias) em cada corpo de prova, totalizando 180 leituras. Para a rugosidade superficial estabeleceu-se a realização de 6 leituras (3 iniciais e 3 após 7 dias) para cada corpo de prova, totalizando 540 leituras. Os dados obtidos foram agrupados e submetidos aos testes estatísticos de Normalidade, ANOVA e Teste de Tukey. A sequência da metodologia utilizada está descrita no fluxograma da Figura 2, a seguir.

A. Confecção dos corpos de prova: 1. Dentes Bovinos Utilizados no Estudo; 2. Suporte de Resina Acrílica; 3. Furadeira de mesa; 4. Politriz; 5. Corpos de prova. **B.** Leituras iniciais de cor e rugosidade superficial (Tp0): 6. Espectrofotômetro; 7. Rugosímetro. **C.** Tratamentos: 8. Grupo controle (Tr1), 9. Clareamento caseiro (Tr2); 10. Bebida ácida (Tr3). **D.** Imersão nas soluções: 11. Água destilada (S1); 12. Clorexidina 0,12% (S2); 13. Enxaguatório à base de Casearia sylvestris (S3). **E.** Leituras finais de cor e rugosidade superficial (Tp7). **F.** Microscopia Eletrônica de Varredura: 14. Microscopia Eletrônica de Varredura.

4.3.1 Obtenção dos corpos de prova

Para a preparação dos corpos-de-prova, os 90 incisivos centrais bovinos hígidos selecionados foram mantidos em solução de formol à temperatura de 4°C (DOMINICI et al., 2001). As raízes dentárias foram removidas 2 mm abaixo da junção amelo-cementária, utilizando-se um disco diamantado (15HC, Buehler, Alemanha) montado em cortadeira elétrica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Alemanha). Para o suporte da estrutura no equipamento de corte, copos plásticos com 5 cm de diâmetro foram preenchidos com resina acrílica quimicamente ativada (Clássico, Clássico Ind. E Com., São Paulo, SP, Brasil) em uma altura de 10mm, onde as coroas dentais foram posicionadas. A região mais plana do dente foi demarcada para a realização do corte. Os suportes de resina acrílica foram posicionados na furadeira de bancada (Schulz, Santa Catarina, Brasil), onde uma broca diâmetro 08, com refrigeração constante, seccionou a estrutura dental em formato cilíndrico. A fim de padronizar a espessura de esmalte dos corpos de prova em 2mm, a superfície dentinária das amostras foi desgastada com uma politriz (Struers, Denmark), utilizando lixas de carbetto de silício, na sequência de granulação 320, 600 e 1.200. A espessura adequada foi checada por paquímetro digital (Mitutoyo Sul-americana, Suzano, Brasil). Durante a realização do experimento, as amostras foram armazenadas em água destilada à 37°, para evitar seu ressecamento e desmineralização (XAVIER et al., 2010). A figura 4 representa a metodologia descrita acima.

Figura 3. Representação da confecção dos corpos de prova. A. Incisivos centrais bovinos hígidos demarcados na região do corte. B. Coroa dental bovina posicionada no suporte de resina acrílica. C. Furadeira de corte utilizada para a obtenção de amostras cilíndricas. D. Politriz utilizada para a padronização da espessura das amostras. E. Corpo de prova cilíndrico.

4.3.2 Confecção da moldeira de clareamento e aplicação do gel clareador

Para o grupo submetido ao clareamento, confeccionaram-se moldeiras individuais para cada corpo de prova, a fim de aplicar o gel clareador. As moldeiras foram confeccionadas com uma placa de silicone (1mm de espessura), recortada no formato e dimensão dos corpos de prova. O clareamento foi realizado com a aplicação de peróxido de carbamida 16% (Whiteness Perfect, Santa Catarina, Brasil), por 6 horas diárias, durante 8 dias, por meio da aplicação de uma gota de gel em cada moldeira, sendo esta na superfície do esmalte dental. Após o procedimento diário, as amostras eram lavadas com água destilada durante 1 minuto para a remoção do material,

secas e armazenadas em água destilada a 37° C (CELIK et al, 2009).

4.4.3 Imersão em bebida alimentícia ácida

Para o grupo submetido ao desafio ácido, foi realizada a imersão individual dos corpos de prova em 15mL de suco de limão com pH 2,4 (Realemon, Canadá), por dois minutos, sob agitação, uma vez ao dia, durante 6 dias (YU et al., 2009). Posteriormente, os corpos de prova eram lavados com água destilada, durante 1 minuto e armazenados em água destilada à 37° C.

4.4.4 Imersão nos enxaguatórios bucais

Para a condição experimental Imersão em enxaguatórios, cada corpo de prova foi posicionado individualmente em um frasco contendo 15mL da solução específica para cada grupo (Quadro 2), durante 2 minutos, sob agitação, três vezes ao dia, por 7 dias. No intervalo entre as imersões, as amostras eram armazenadas em água destilada à 37° C. Ao final do período experimental, realizou-se a análise da superfície através da avaliação da cor e rugosidade superficial.

4.4.5 Leituras de cor

A análise da cor foi realizada em dois momentos: após a confecção das amostras e previamente a qualquer tratamento, e 24h após o término do período experimental.

Os corpos de prova foram secos com papel absorvente e posicionados no aparelho com o auxílio de uma pinça. A avaliação foi realizada com o auxílio do espectrofotômetro portátil (X-Rite SP62S, São Paulo, Brasil), com abertura focal de 4 mm e a geometria difusa utilizada de D/8° (Figura 5).

A leitura de cor com o auxílio do espectrofotômetro é realizada com o sistema CIEL*a*b*, onde o L* representa o valor; a* representa uma cor com tendência avermelhada quando positivo, e esverdeada quando negativo, enquanto o b* é uma medida amarelada quando positivo e azulada quando negativo. A diferença de cor é calculada como $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ (BUENO et al., 2011).

Figura 4. Espectrofotômetro X – Rite SP62S.

4.4.6 Leitura da Rugosidade Superficial

A leitura de rugosidade superficial foi realizada em dois momentos: após a confecção das amostras e previamente a qualquer tratamento, e 24h após o término do período experimental.

A rugosidade da superfície do esmalte foi avaliada por meio do Rugosímetro SJ-201 P/M (Mitutoyo, Tokyo, Japão). Os corpos de prova foram secos com papel absorvente e posicionados com o auxílio de uma pinça sobre o aparelho (Figura 3), onde foram fixados com cera nº 09. O equipamento

registra a média entre picos e vales da superfície do material avaliado, determinando a rugosidade superficial média (FIELD et al., 2013).

Figura 5. Rugosímetro SJ – 201 P/M.

4.4.7 Microscopia eletrônica de Varredura

A fim de obter imagens de caráter ilustrativo sobre o efeito dos enxaguatórios bucais na superfície do esmalte dental, selecionou-se um corpo de prova de cada subgrupo pertencente ao grupo controle, o qual não foi submetido a nenhum tipo de tratamento, para análise visual, utilizando o Microscópio Eletrônico de Varredura (Figura 7). A aquisição da imagem foi realizada após o período experimental, através do equipamento Zeiss DSM 940 (Alemanha). Obteve-se um aumento de 300x e 1000x, atingindo diferentes áreas de nivelamento do esmalte dental. Os ensaios foram realizados no

Laboratório de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) produz imagens de alta ampliação (até 300.000 x) e resolução. O aparelho emite elétrons na superfície do material, e a imagem transcodificada da energia emitida pelos elétrons é visualizada no monitor (GODOI, 2013).

Figura 6. Microscópio Eletrônico de Varredura Zeiss DSM 940.

Resultados

5. Resultados

5.1 Alteração de cor

Os dados de alteração de cor obtidos foram agrupados em tabela (Anexo A) e submetidos ao teste de aderência à curva normal. A distribuição amostral (Anexo B) foi não normal para os valores originais de ΔE . As médias dos valores originais encontram-se em anexo (Anexo C).

Após a transformação dos dados em logaritmo, a distribuição amostral foi normal (Tabela 1). Assim, realizou-se a análise de variância (Tabela 2), que demonstrou haver significância ($p \leq 0,05$) para o fator Tratamento (Tr) e a Interação Tratamento x Solução. Para verificação das diferenças foi aplicado o Teste complementar de Tukey.

Tabela 1. Teste de aderência à Curva Normal: Valores convertidos em logaritmo para alteração de cor (ΔE^*).

A. Frequência por intervalos de classe								
Intervalos de classe		M-3s	M-2s	M-1s	Med.	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal:		0.44	5.40	24.20	39.89	24.20	5.40	0.44
Curva experimental:		1.11	3.33	24.44	38.89	30.00	1.11	1.11
Cálculo do Qui - quadrado				Interpretação				
Graus de liberdade:		4	A distribuição testada					
Valor	do Qui	– 5.62	é normal					
quadrado:								
Probabilidade de H0:		22.9800%						

Tabela 2. Análise de Variância para os valores convertidos em logaritmo do parâmetro (ΔE^*) .

Fonte de variação	Soma de Quadr.	G.L.	Quadr. Médios	(F)	Prob. (H0)
Tratamento (Tr)	5.1253	2	2.5626	37.00	0.000 %
Solução (S)	0.3844	2	0.1922	2.78	6.655 %
Interação TrXS	1.2692	4	0.3173	4.58	0.253 %
Resíduo I	5.6096	81	0.0693		
Variação total	12.3884	89			
(p≤0,05)					

a) Fator Tratamento

A significância do fator Tratamento representa que este tem efeito sobre a variável Alteração de cor. Na Tabela 3 verificou-se que os dentes submetidos ao clareamento caseiro (Tr₂) e à imersão em bebida ácida (Tr₃) apresentaram uma maior alteração na cor, quando comparado ao grupo controle (Tr₁), porém, não apresentaram diferença estatística entre si. As médias dos valores originais estão representadas no gráfico 1.

Tabela 3. Médias log de alteração de cor (ΔE^*) para o fator Tratamento.

Tr1	Tr2	Tr3
0,24a	0,75b	0,74b

Tukey 0,20

Dp ± 0,04

Diferentes letras indicam diferença estatística

Gráfico 1. Média dos valores originais de alteração de cor (ΔE^*) para o fator Tratamento.

b) Fator Solução

Este fator não teve efeito sobre a variável de estudo, ΔE . As diferentes soluções não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si (Tabela 4). As médias dos valores originais estão representadas no Gráfico 2.

Tabela 4. Média log de alteração de cor (ΔE^*) para o fator Solução.

S1	S2	S3
0,50	0,58	0,66

Dp $\pm$ 0,04

Gráfico 2. Média dos valores originais de alteração de cor (ΔE^*) para o fator Solução.

c) Tratamento x Solução

A interação Tratamento x Solução demonstrou ter efeito significativo sobre a alteração de cor. De acordo com a tabela 5 é possível verificar, no sentido das colunas, que os corpos de prova de esmalte de dente bovino imersos em água destilada (S1) apresentaram a menor média de alteração de cor. O grupo submetido ao enxaguatório bucal à base de *Casaria sylvestris* (S3) apresentou média estatisticamente igual ao grupo imerso em clorexidina 0,12% (S2). Esta, por sua vez, é estatisticamente semelhante ao grupo imerso em água destilada.

No sentido das linhas, observa-se que as amostras imersas em água destilada (S1), quando submetidas ao clareamento caseiro (Tr2) e à bebida ácida (Tr3), apresentaram uma maior alteração de cor, em relação aos corpos de prova sem tratamento (Tr1). Porém, comparando os dois tratamentos (Tr2 e Tr3) entre si, não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Para o Grupo submetido à ação da Clorexidina a 12% (S2), o clareamento caseiro (Tr2) determinou maior média de alteração de cor que a bebida ácida (Tr3), e

as duas médias foram estatisticamente maiores que à do Grupo controle (Tr1). Para o Grupo submetido à *Casearia Sylvestris*, os três Tratamentos em estudo, não determinaram diferenças estatisticamente significantes. A relação entre as médias dos valores originais está representada no Gráfico 3.

Tabela 5. Média log de alteração de cor (ΔE^*) para Tratamento X solução.

	Tr1	Tr2	Tr3
S1	0,0a	0,72c	0,80c
S2	0,21ab	0,84c	0,69c
S3	0,53bc	0,71c	0,74c

Tukey 0,44

Dp $\pm$ 0,08

Diferentes letras indicam diferença estatística.

Gráfico 3. Média dos valores originais de alteração de cor (ΔE^*) para Tratamento X Solução.

5.2 Rugosidade superficial (μm)

Os dados de rugosidade superficial (μm) foram agrupados em Tabela (Anexo D) e submetidos ao teste de aderência à curva normal, o qual demonstrou que a distribuição amostral estudada é normal (Tabela 6). A análise de Variância (Tabela 7) demonstrou que o Fator Tempo e a Interação Tratamento x Tempo tiveram efeitos estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$) sobre a rugosidade superficial, enquanto que os fatores Tratamento e Solução, isoladamente, e as interações Tratamento x Solução e Tempo x Solução não tiveram efeito estatisticamente significativo.

Tabela 6. Teste de aderência à curva normal para os valores originais de rugosidade superficial (μm).

A. Frequência por intervalos de classe								
Intervalos de classe		M-3s	M-2s	M-1s	Med.	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal:		0.44	5.40	24.20	39.89	24.20	5.40	0.44
Curva experimental:		0.00	3.89	26.67	47.78	15.00	3.89	2.78º
Cálculo do Qui - quadrado		Interpretação						
Graus de liberdade: 4		A distribuição testada						
Valor do Qui – 6.15		é normal						
quadrado:								
Probabilidade de H0: 18.7900 %								

Tabela 7. Análise de variância para a rugosidade superficial (μm).

Fonte de variação	Soma de Quadr.	G.L.	Quadr. Médios	(F)	Prob. (H0)
Tratamento (T)	31.6837	2	15.8419	2.85	6.2012 %
Solução (S)	19.9274	2	9.9637	1.79	17.1184 %
Interação TXS	23.8402	4	5.9601	1.07	37.6169 %
Resíduo I	233.6840	54	4.3275		
Entre Tempo	6.9497	1	6.9497	5.97	1.5910 %
Interação Tempo X Tratamento	24.6615	2	12.3308	10.59	0.0217 %
Interação Tempo X Solução	1.6094	2	0.8047	0.69	49.1504 %
Interação Tempo X Tratamento X Solução	3.2796	4	0.8199	0.70	40.5807 %
Resíduo II	94.3362	81	1.1646		
Variação total	656.5876	179			
(p $\leq$ 0,05)					

a) Fator Tratamento

A não significância do fator Tratamento (Tr_1 , Tr_2 e Tr_3) significa que este não teve efeito significativo sobre a variável rugosidade superficial, quando analisado isoladamente. Na tabela 8 constam as médias para este fator em unidade de medida μm . Os valores estão representados no gráfico 4.

Tabela 8. Média de rugosidade superficial (μm) para o fator Tratamento.

Tr1	Tr2	Tr3
3,51	2,82	2,51

dp $\pm$ 0,13

Gráfico 4. Média dos valores originais de rugosidade superficial (μm) para o fator Tratamento.

b) Fator Solução

Este fator não teve efeito estatisticamente significativo sobre a variável de estudo. Isto significa que as diferentes soluções avaliadas não apresentaram diferença na rugosidade superficial. As médias constam na Tabela 9. Os valores estão representados no gráfico 5.

Tabela 9. Média de rugosidade superficial (μm) para o fator Solução.

S1	S2	S3
3,41	2,71	2,71

Gráfico 5. Média de rugosidade superficial (μm) para o fator Solução.

c) Fator Tempo

O fator Tempo teve efeito significativo sobre a rugosidade superficial. Na Tabela 10 constata – se que a média de rugosidade superficial (μm) a média no Tempo inicial foi menor estatisticamente que após 7 dias. Os valores estão representados no gráfico 6.

Tabela 10. Médias de rugosidade superficial (μm) para o período Inicial (Tp0) e após 7 dias (Tp7).

Tp0	Tp7
2,75	3,14
Dp $\pm$ 0,11

Gráfico 6. Média de rugosidade superficial (μm) para o fator Tempo.

a) Interação Tratamento x Solução

A interação entre os fatores Tratamento x Solução não teve efeito significativo sobre a variável rugosidade superficial. Na Tabela 11 constam as médias de rugosidade superficial (μm), representadas no Gráfico 7.

Tabela 11. Média de rugosidade superficial (μm) para Tratamento X Solução.

	Tr1	Tr2	Tr3
S1	3,35	3,86	3,03
S2	3,74	2,15	2,24
S3	3,44	2,44	2,25

$D_p \pm 0,24$

Gráfico 7. Média dos valores originais de rugosidade superficial para Tratamento X Solução.

d) Interação Tempo x Tratamento

A interação entre o fator Tempo e o Tratamento tem efeito sobre a rugosidade superficial. Na tabela 12 é possível verificar as diferenças entre as

médias. Analisando no sentido das linhas, foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre as médias do grupo de corpos de prova submetidos à ação de bebida alimentícia ácida (Tr_3), nos tempos inicial (Tp_0) e após 7 dias (Tp_7), sendo a maior média de rugosidade superficial após o tempo de 7 dias. O grupo controle (Tr_1) e clareamento caseiro (Tr_2) apresentaram médias estatisticamente iguais entre si, nos dois tempos (Tp_0 e Tp_7). No sentido das-colunas, no tempo inicial Tp_0 , a média para Tr_3 foi menor que para Tr_1 e Tr_2 , que foram iguais entre si. Após 7 dias (Tp_7) nenhum dos tratamentos determinou diferenças estatisticamente significantes, conforme visualizado no gráfico 8.

Tabela 12. Média dos valores de rugosidade superficial para

Tempo X Tratamento.

	Tp0	Tp7
Tr1	3,67 ^b	3,35 ^b
Tr2	2,78 ^b	2,86 ^b
Tr3	1,80 ^a	3,21 ^b

Tukey 0,90

Dp $\pm$ 0,19

Diferentes letras indicam diferença estatística

Gráfico 8. Média de rugosidade superficial (μm) para Tempo X Tratamento.

e) Interação Tempo x Solução

A relevância desta interação está no fato dela ser não significativa, considerando que o fator Tempo, isoladamente, teve efeito significativo. No entanto, quando da sua interação com o fator Solução, a interação Tempo X Solução não apresentou efeito significativo sobre a rugosidade superficial. As médias desta interação constam na Tabela 13 e no Gráfico 9, a seguir.

Tabela 13. Médias dos valores de rugosidade superficial para Tempo X Solução.

	Tp0	Tp7
S1	3,18	3,65
S2	2,64	2,78
S3	2,42	3,00

$Dp \pm 0,19$

Gráfico 9. Média de rugosidade superficial (μm) para o fator Tempo X Solução.

5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

As imagens obtidas através da Microscopia Eletrônica de Varredura sugerem haver diferença entre os dentes hígidos imersos em água destilada, clorexidina e enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris*.

A aquisição da imagem em uma área desnivelada da estrutura dentária para as diferentes imersões sugere uma maior quantidade de poros para a amostra imersa em Clorexidina 0,12% (S₂), enquanto o dente bovino imerso no enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* (S₃) possivelmente apresentou uma superfície com um maior desnivelamento (Figuras 8 e 9). A amostra submetida ao enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* possui rachaduras na superfície. Estas, porém, são decorrentes de artefato técnico, o que sugere a presença de enxaguatório bucal na região (Figuras 10 e 11).

Figura 7. Microscopia Eletrônica de Varredura para os dentes sem tratamento (Tr1). Área de superfície desnivelada. Aumento em 300x. A Imersão em água Destilada. B Imersão em Clorexidina. C Imersão em enxaguatório bucal a base de *Casearia sylvestris*.

Figura 8. Microscopia Eletrônica de Varredura para dentes sem tratamento (Tr1). Área de superfície desnivelada. Aumento em 1000x. A Imersão em água Destilada. B Imersão em Clorexidina. C Imersão em enxaguatório bucal a base de *Casearia sylvestris*.

Figura 9. Microscopia Eletrônica de Varredura para dentes íntegros (Tr1). Área de superfície lisa. Aumento em 300x. A Dente hígido imerso em água Destilada. B Dente hígido imerso em Clorexidina. C Dente hígido imerso em enxaguatório bucal a base de *Casearia sylvestris*.

Figura 10. Microscopia Eletrônica de Varredura para dentes íntegros (Tr1). Área de superfície lisa. Aumento em 1000x. A Imersão em água Destilada. B Imersão em Clorexidina. C Imersão em enxaguatório bucal a base de *Casearia sylvestris*.

Discussão

6. Discussão

Considera-se medicamento fitoterápico aquele contendo matérias – primas de origem vegetal, sendo reconhecidos a sua eficácia e riscos (ASSIS, 2009). A diversidade vegetal presente no Brasil torna a utilização de plantas medicinais no tratamento odontológico uma área de grande potencial científico (OLIVEIRA et al., 2007), sendo usualmente encontrados como antiinflamatórios, analgésicos, sedativos e irrigantes endodônticos (GROPPO et al., 2008).

O óleo essencial da *Casearia sylvestris* possui ações anti-inflamatórias, antigástricas (ESTEVES et al., 2005; FERREIRA et al., 2011), antimicrobiana (DA SILVA et al., 2008; DUARTE et al. 2009), anticancerígena (WANG et al., 2009), antisséptica e anestésica (DA SILVA et al., 2006). Sua ação farmacológica está relacionada com os óleos voláteis, tannins e triptenos presentes nas folhas das plantas. (ESTEVES et al., 2005).

No campo odontológico, dentifrícios e cremes à base do óleo essencial da *Casearia sylvestris* são comercializadas atualmente para a cicatrização de feridas na boca e tratamento de herpes, enquanto folhas de chá são vendidas para tratamento de aftas e mau hálito (SPANDRE, 2010). Atualmente, pesquisas estudam o uso de seu óleo essencial como princípio ativo de enxaguatório bucal (GODOI, 2013).

O desenvolvimento de um enxaguatório bucal à base de óleo essencial de *Casearia sylvestris* busca superar os efeitos adversos apresentados pelo gluconato de Clorexidina, porém, apresentando eficácia semelhante. O uso do enxaguatório bucal deve proporcionar benefícios para o paciente sem alterar a integridade da estrutura dental. Deve-se considerar, ainda, a ação de outros fatores, como procedimentos odontológicos ou até mesmo a dieta alimentícia, os quais podem atuar juntamente com o enxaguatório bucal, promovendo alterações na superfície do esmalte dental.

Considerando uma possível interação entre o uso de antissépticos bucais com o clareamento caseiro ou bebidas com baixo pH, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação do enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* e da Clorexidina 0,12% na cor e rugosidade superficial da superfície do esmalte de dentes clareados e submetidos à imersão em solução ácida.

A coloração do dente resulta da associação de sua cor intrínseca e extrínseca. A coloração intrínseca é dada pela difusão e absorção da luz refletida no esmalte e na dentina, enquanto a coloração extrínseca é associada à absorção de produtos da dieta pela superfície do esmalte e película protetora. Assim, o uso frequente de enxaguatórios bucais pode ser um fator etiológico para alteração de cor do esmalte dental (BAZZI et al., 2012).

O tratamento das amostras com gel clareador e imersão em bebida ácida ocasionou uma maior alteração de cor, tendo estas igualdade estatística entre si. Como no presente estudo a leitura de cor inicial ocorreu previamente ao procedimento do clareamento, considera-se que esta alteração significativa de cor ocorreu devido ao resultado do tratamento, e não foi influenciado pelos enxaguatórios bucais. O contato da estrutura dental com solução de pH ácido pode ocasionar o manchamento da mesma (BAZZI et al., 2012; ADEYEMI et al., 2008). Como a solução utilizada como bebida ácida possui pH de 2,4, a imersão das amostras, mesmo que por um período de tempo curto, foi capaz de alterar a cor do dente, devido à desmineralização da estrutura dentária ocasionada pela acidez do produto.

No presente estudo, os enxaguatórios bucais, quando avaliados isoladamente, não promoveram alteração de cor na estrutura dental. Moreira et al. (2013) avaliaram a alteração de cor da estrutura dental com o uso de enxaguatório bucal por um período prolongado. Os autores verificaram que apenas o antisséptico contendo álcool em uma alta proporção na solução proporcionou uma alteração de cor significativa (MOREIRA et al., 2013). Entretanto, no presente estudo os produtos avaliados utilizam uma menor quantidade de álcool em sua composição. Além disso, o período avaliado no presente estudo foi de 7 dias, enquanto Moreira et al. utilizaram os enxaguatórios por um período representativo de 7 anos e 9 meses.

Na interação Tratamento x Solução, os dentes imersos em clorexidina, obtiveram uma maior alteração de cor quando comparados ao grupo imerso em água destilada. Entretanto, a alteração foi ainda maior quando estes foram submetidos ao clareamento caseiro ou imersão em bebida ácida. O fenômeno de manchamento dos dentes pelo gluconato de Clorexidina ainda não está totalmente elucidado, porém a hipótese mais provável é que a interação da clorexidina com cromógenos presentes na dieta produza corantes que se depositam na estrutura dentária, causando um manchamento extrínseco (ZANATTA et al., 2010). Este pode ser removido através da escovação, profilaxia ou polimento coronário. Dentre as limitações de um estudo *in vitro*, não se considerou o efeito de agentes externos ocasionando o manchamento ou atuando na sua remoção. Este fator pode ter levado à uma alteração de cor que, provavelmente, não ocorreria em uma situação *in vivo*, visto que o período de 7 dias não é considerado prejudicial ao dente no quesito manchamento. De acordo com Kumar et al. (2012), a descoloração ocorrerá apenas quando o enxaguatório for utilizado durante um longo período.

Para o grupo controle submetido à imersão no enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris*, ocorreu uma maior alteração de cor em relação à água destilada. A microscopia eletrônica de varredura sugere que o enxaguatório bucal associado à *Casearia sylvestris* permaneceu depositado na superfície dentária mesmo após o armazenamento da amostra em água destilada. Provavelmente esta alteração foi ocasionada pela presença do enxaguatório bucal no esmalte dental durante a leitura de cor, provocando alteração na dispersão dos raios luminosos. Este fato pode ter ocorrido devido à capacidade da *Casearia sylvestris* de atuar como quelante com íons metálicos (DA SILVA et al., 2006), o que pode ter ocasionado sua aderência ao cálcio presente no esmalte dental e consequente deposição sobre a superfície.

Não houve diferença estatística entre as soluções avaliadas no grupo de dentes clareados. Os resultados concordam com Adeyemi et al. (2008), onde os autores não encontraram uma maior susceptibilidade ao manchamento em dentes clareados imersos em chá ou clorexidina 0,12% (ADEYEMI et al., 2008). Já Tanaka et al. (2010) afirmam que o clareamento caseiro ocorre

devido à desmineralização do esmalte durante o período do tratamento, permitindo a penetração de íons e moléculas pela estrutura do esmalte hipomineralizado, o que poderia ocasionar uma maior tendência ao manchamento, quando comparado com dentes íntegros. Entretanto, futuros estudos são necessários envolvendo a presença de corantes da dieta em associação ao uso dos enxaguatórios durante o período do clareamento caseiro, para confirmar que não haverá interação entre os tratamentos. A imersão das amostras em produto ácido não tornou o esmalte dental mais susceptível ao manchamento pelos enxaguatórios bucais avaliados, podendo-se verificar que a utilização concomitante dos produtos não está contraindicada.

No presente estudo avaliou-se a rugosidade superficial das amostras após o uso dos enxaguatórios, tanto em dentes íntegros como clareados ou submetidos à solução ácida. Entende-se por rugosidade as irregularidades, saliências e reentrâncias presentes na superfície do dente, as quais podem ser medidas por um rugosímetro (SABATOSKI et al., 2010). Segundo Field et al. (2013), a avaliação da rugosidade superficial não informa detalhes sobre a textura da superfície, resistência ao desgaste ou capacidade da superfície de reter líquidos ou lubrificantes. Logo, torna-se uma metodologia limitada para avaliar o efeito dos produtos na superfície do esmalte. Entretanto, seu uso permite levantar hipóteses de possíveis alterações promovidas na estrutura dental.

O clareamento caseiro não promoveu diferença estatística na rugosidade superficial, discordando dos achados de Markovic et al. (2007), onde o uso de peróxido de carbamida 10% e 16% resultou no aumento da rugosidade de dentes humanos. Segundo Field et al. (2013), os dentes bovinos tem uma maior quantidade de regiões interprismáticas comparado ao dente humano, e esta é mais resistente à erosão. Logo, os dentes bovinos podem, do mesmo modo, ser mais resistentes à ação do peróxido de carbamida. Este fato explicaria a diferença entre os resultados encontrados, mesmo tendo sido o clareamento caseiro realizado por períodos de tempos semelhantes.

Pode-se prever que nenhum produto avaliado causa alterações na superfície do esmalte, visto que não houve diferença estatística entre os enxaguatórios bucais avaliados. Uma maior área de superfície irá promover um maior contato com as soluções em contato com a cavidade bucal. Assim, foi suposto que este fato poderia promover uma ação sinérgica no aumento da rugosidade superficial, caso os enxaguatórios bucais possuíssem algum efeito sobre a estrutura dental. Entretanto, não foram encontradas diferenças na rugosidade superficial de dentes submetidos aos diferentes tipos de tratamento quando interagindo com as soluções estudadas. O aumento da área pode também apresentar um efeito benéfico, retendo o antisséptico bucal na superfície e, possivelmente, formando uma película protetora contra agentes exógenos. Porém, tais fatores não foram avaliados no estudo em si.

Apenas os dentes submetidos à imersão em bebida ácida apresentaram aumento na rugosidade superficial após 7 dias. Os resultados concordam com Zanet et al. (2010), onde a rugosidade superficial foi maior após o contato com produtos ácidos. Esta variação ocorre devido à dissolução de cristais de apatita (FIELD, 2013), levando a um maior número de picos na estrutura dentária e, conseqüentemente, aumento na área da superfície.

Um aspecto limitante do presente estudo é a ausência da saliva artificial, visto que esta tem um papel importante em minimizar o processo erosivo, devido à sua capacidade de remineralização e de formar uma película protetora sobre a estrutura dental. Assim, na presença da saliva, há uma precipitação mineral limitada, e a superfície desmineralizada pode ganhar mineral devido à precipitação de vários sais (LUSSI et al.; 2011). Ainda, segundo Ogura (2013), a microestrutura do esmalte é importante na desmineralização, visto que a hidroxiapatita pode tanto aumentar como reduzir a susceptibilidade à erosão.

As imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) confirmam a presença do enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* na superfície do esmalte, visto que as falhas ocorridas por artefato técnico indicam a presença de material orgânico na região. O desnível da superfície foi maior na amostra submetido ao enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris*, enquanto a amostra submetida à clorexidina apresentou maior quantidade de

poros. Embora as alterações estejam visíveis nas imagens, não houve alteração na rugosidade superficial de ambos colutórios bucais. Considerando que as amostras são independentes, não se pode afirmar que tais fatos tenham ocorridos devido à imersão dos produtos. Novos estudos são necessários, utilizando diferentes variáveis, para que se possa confirmar os resultados da presente pesquisa.

Conclusão

7. Conclusão

De acordo com a metodologia utilizada foi possível concluir que:

- O clareamento caseiro e a imersão em bebida ácida causaram uma maior alteração de cor do elemento dental;
- O enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* e a Clorexidina 0,12% isoladamente não influenciaram na cor do esmalte dental;
- A associação entre Tratamento x Solução teve significância na alteração de cor do esmalte dental, de forma que o enxaguatório bucal à base de *Casearia sylvestris* promoveu a maior alteração de cor;
- A associação entre os diferentes tratamentos com o uso dos enxaguatórios bucais não provocou aumento na rugosidade superficial;
- Os enxaguatórios bucais não modificaram a rugosidade superficial do esmalte dental;
- A rugosidade superficial foi maior após 7 dias;
- Na interação Tempo X Tratamento, apenas a imersão em bebida ácida ocasionou o aumento da rugosidade superficial do esmalte.

Referências Bibliográficas

8. Referências Bibliográficas

1. Abouassi T, Wolkewitz M, Hahn P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. *Clinical Oral Investigations* 2011; 15:673–680.
2. Adeyemi AA, Pender N, Higham SM. The susceptibility of bleached enamel to staining as measured by Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF). *International Dental Journal* .2008; 58: 208-212.
3. Addy M, Mahdavi SA, Loyn T. Dietary staining in vitro by mouthrinses as a comparative measure of antiseptic activity and predictor of staining in vivo. *Journal of dentistry*. 1995; 23(2):95-9.
4. Albersson KW, Persson A, Lingstrom P, van Dijken WV. Effects of mouthrinses containing essential oils and alcohol-free chlorhexidine on human plaque acidogenicity. *Clinical Oral Investigations* 2010; 14:107–112.
5. Assis C. Plantas medicinais na Odontologia. *Revista Brasileira de Odontologia* 2009 Jan; 66(1): 72-75.
6. Attia ML, Aguiar FH, Mathias P, Ambrosano GM, Fontes CM, Liporoni PC. The effect of coffee solution on tooth color during home bleaching applications. *American Journal of Dentistry*. 2009; 22(3):175-9.
7. Bazzi JZ, Bindo MJ, Rached RN, Mazur RF, Vieira S, de Souza EM. The effect of at-home bleaching and toothbrushing on removal of coffee and cigarette smoke stains and color stability of enamel. *Journal of the American Dental Association*. 2012 May; 143(5):1-7.

8. Bueno FG, Lopes LG, de Souza JB, Correr- Sobrinho L, Fonseca RB. Influência de diferentes dentifrícios clareadores na cor dental e topografia superficial após ciclos de escovação. Disponível em www.ufg.br/conpeex/2011/pivic. Acesso dia 31/08/2013, às 20:00.
9. Castilho AL, Saraceni CH, Diaz IE, Paciencia ML, Suffredini IB. New trends in dentistry: plant extracts against *Enterococcus faecalis*. The efficacy compared to chlorhexidine. Brazilian oral research. 2013; 27(2):109-15.
10. Cavallari MM. Variabilidade genética e química entre e dentro de populações de *Casearia sylvestris* (Salicaceae) no Estado de São Paulo. Tese (Doutorado), Botucatu, São Paulo. Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, 2008.
11. Celik C, Yuzugullu B, Erkut S, Yazici AR. Effect of bleaching on staining susceptibility of resin composite restorative materials. Journal of esthetic and restorative dentistry 2009; 21(6):407-14.
12. Cho SD, Bulpakdi P, Matis BA, Platt JA. Effect of Bleaching on Fracture Toughness of Resin Composites. Operative Dentistry. 2009; 34(6): 703-708.
13. Cordeiro CHG, do Sacramento LVS, Corrêa MA, Pizzolitto AC, Bauab TM. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2006 Jul; 42(3): 396-404.
14. Da Silva AC, Balz D, de Souza JBDA, Morsch VM, Corrêa MC. Inhibition of NTPDase, 50-nucleotidase, Na⁺/K⁺-ATPase and acetylcholinesterase activities by subchronic treatment with *Casearia sylvestris*. Phytomedicine. 2006; 13: 509–514.
15. Da Silva FB, de Almeida JMA, de Sousa MG. Natural medicaments in endodontics – a comparative study of the anti-inflammatory action. Brazilian Oral Research 2004;18(2):174-9.

16. Da Silva SL, Chaar JS, Damico DCS, Figueiredo PMS, Yano T. Antimicrobial Activity of Ethanol Extract from Leaves of *Casearia sylvestris*. *Pharmaceutical Biology*. 2008; 46(5): 347–351.

17. De Vasconcelos AAM, Cunha AGG, Borges BCD, Vitoriano JO, Alves-Junior C, Machado CT, dos Santos AJS. Enamel properties after tooth bleaching with hydrogen/carbamide peroxides in association with a CPP-ACP paste. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2012; 70: 337–343.

18. Dominici JT, Eleazer PD, Clark SJ, Staat RH, Scheetz JP. Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. *Journal of dental education*. 2001 Nov;65(11):1278-80.

19. Drumond MRS, de Castro RD, de Almeida RVD, Pereira MSV, Padilha, WWN. Comparative study in vitro of the antibacterial activity from phytotherapeutic products against cariogenic bacteria. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada* 2004 Jan; 4(1): 33-38.

20. Duarte MAH, Midená RZ, Zeferino MA, Vivan RR, Weckwerth PH, dos Santos F, Guerreiro – Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Evaluation of pH and Calcium Ion Release of Calcium Hydroxide Pastes Containing Different Substances. *Journal of Endodontics* 2009 ; 35(9): 1274-1277.

21. Ennibi O, Lakhdar L, Bouziane A, Bensouda Y, Abouqal R. Chlorhexidine alcohol base mouthrinse versus Chlorhexidine formaldehyde base mouthrinse efficacy on plaque control: double blind, randomized clinical trials. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2013;18 (1):e135-9.

22. Esteves I, Souza IR, Rodrigues M, Cardoso LGV, Santos LS, Sertie JAA, Perazzo FF, Lima LM, Schneedorf M, Bastos JK, Carvalho JCT. Gastric antiulcer and anti inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005; 101: 191–196.

23. Faraoni – Romano JJ, da Silveira AG, Turssi CP, Serra MC. Bleaching Agents with Varying Concentrations of Carbamide and/or

Hydrogen Peroxides: Effect on Dental Microhardness and Roughness. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2008; 20: 395–404.

24. Faraoni – Romano JJ, Turssi CP, Serra MC. Concentration-dependent effect of bleaching agents on microhardness and roughness of enamel and dentin. *American Journal of Dental Research*. 2007; 20(1):31-4.

25. Faria Jr. EB. Avaliação da atividade biológica do extrato das folhas de casearia sylvestris e suas frações sobre *Streptococcus mutans*. 2005. 23p. Monografia de Conclusão de Curso (Graduação em farmácia). Universidade do estado de Minas Gerais, Centro Universitário de Lavras, Lavras, MG.

26. Feng G, Klein MI, Gregoire S, Singh AP, Vorsa N, Koo H. The specific degree-of-polymerization of A-type proanthocyanidin oligomers impacts *Streptococcus mutans* glucan-mediated adhesion and transcriptome responses within biofilms. *Biofouling*. 2013;29(6):629-40.

27. Ferreira PM, Costa-Lotufo LV, Moraes MO, Barros FW, Martins AM, Cavaleiro AJ, et al. Folk uses and pharmacological properties of *Casearia sylvestris*: a medicinal review. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 2011 Dec;83(4):1373-84.

28. Field J, German M, Waterhouse P. Using bearing area parameters to quantify early erosive tooth surface changes in enamel: A pilot study. *Journal of Dentistry*. 2013 Aug 30.

29. Francisconi LF, Honorio HM, Rios D, Magalhaes AC, Machado MA, Buzalaf MA. Effect of erosive pH cycling on different restorative materials and on enamel restored with these materials. *Operative dentistry*. 2008 Mar-Apr;33(2):203-8.

30. Godoi, APT. Estudo do Óleo essencial de *Casearia sylvestris* e da Formulação de Enxaguatório bucal. Caracterização química, Citotoxicidade, Potencial antimicrobiano e Efeito nas propriedades dos Materiais Odontológicos estéticos. Tese (Doutorado), Ribeirão Preto, São Paulo: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2013.

31. Groppo FC, Bergamaschi Cde C, Cogo K, Franz-Montan M, Motta RH, de Andrade ED. Use of phytotherapy in dentistry. *Phytotherapy research* : PTR. 2008 Aug;22(8):993-8.

32. Guoping Feng , Marlise I. Klein , Stacy Gregoire , Ajay P. Singh , Nicholi Vorsa & Hyun Koo (2013) The specific degree-of-polymerization of A-type proanthocyanidin oligomers impacts *Streptococcus mutans* glucan-mediated adhesion and transcriptome responses within biofilms, *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, 29:6, 629-640.

33. Haffajee SAD, Yaskell T, Socransky SS. Antimicrobial Effectiveness of an Herbal Mouthrinse Compared With an Essential Oil and a Chlorhexidine Mouthrinse. *Journal of the American Dental Association*. 2008;139(5):606-611.

34. Hilgenberg SP, Pinto SCS, Farago PV, Santos FA, Wambier DS. Physical-chemical characteristics of whitening toothpaste and evaluation of its effects on enamel roughness. *Brazilian Oral Research*. 2011 Jul-Aug;25(4):288-94.

35. Jeong S, Kim BS, Keum KS, Lee KH, Kang SY, Pak BI, Lee YR, You YO. Kaurenoic Acid from *Aralia continentalis* Inhibits Biofilm Formation of *Streptococcus mutans*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 1-9.

36. Kocak MM, Ozcan S, Kocak S, Topuz O, Erten H. Comparison of the efficacy of three different mouthrinse solutions in decreasing the level of *Streptococcus Mutans* in saliva. *European Journal of Dentistry*. 2009, Jan; 3.

37. Kumar S, Patel S, Tadakamadla J, Tibdewal H, Duraiswamy P, Kulkarni S. Effectiveness of a mouthrinse containing active ingredients in addition to chlorhexidine and triclosan compared with chlorhexidine and triclosan rinses on plaque, gingivitis, supragingival calculus and extrinsic staining. *International journal of dental hygiene*. 2013;11(1):35-40.

38. Liporoni PCS, Souto CMC, Pazinato RB, Cesar ICR, de Rego MA, Mathias P, Cavalli V. Enamel Susceptibility to Coffee and Red

Wine Staining at Different Intervals Elapsed from Bleaching: A Photoreflectance Spectrophotometry Analysis. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2010; 28(2): 105-109.

39. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries research*. 2011;45 Suppl 1:2-12.

40. Markovic L, Jordan RA, Lakota N, Gaengler P. Micromorphology of enamel surface after vital tooth bleaching. *Journal of Endodontics*. 2007 May;33(5):607-10.

41. Mondelli RF, Azevedo JF, Francisconi PA, Ishikiriama SK, Mondelli J. Wear and surface roughness of bovine enamel submitted to bleaching. *The European Journal of Esthetic Dentistry* 2009 Winter;4(4):396-403.

42. Moreira ACA, Pereira MHQ, Porto MR, da Rocha LAP, Nascimento BC, Andrade PM. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas* 2009; 8(2): 153-161.

43. Moreira AD, et al. Chromatic analysis of teeth exposed to different mouthrinses. *Journal of Dentistry*, 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2012.12.002>.

44. Nekrashevych Y, Stosser L. Protective Influence of Experimentally Formed Salivary Pellicle on Enamel Erosion: An in vitro Study. *Caries Research* 2003; 37:225–231.

45. Ogura K, Tanaka R, Shibata Y, Miyazaki T, Hisamitsu H. In vitro demineralization of tooth enamel subjected to two whitening regimens. *Journal of Dental American Association* 2013;144(7):799-807

46. Oliveira FQ, Gobira B, Guimarães C, Batista J, Barreto M, Souza M. Espécies vegetais indicadas na odontologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2007 Jul; 17(3): 466-476.

- 47.** Pinto CF, de Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agent effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Brazilian Oral Research* 2004;18(4):306-11.
- 48.** Prieto AM, dos Santos AG, Oliveira APS, Cavaleiro AJ, Silva DHS, Bolzani VS, Varanda EA, Soares C. Assessment of the chemopreventive effect of casearin B, a clerodane diterpene extracted from *Casearia sylvestris* (Salicaceae). *Food and Chemical Toxicology* . 2013; 53: 153–159.
- 49.** Rodrigues JA, Lussi A, Seemann R, Neuhaus KW. Prevention of crown and root caries in adults. *Periodontology* 2000. 2011; 55: 231–249.
- 50.** Sabatoski MA, Maruo IT, Camargo ES, Filho OG, Tanaka OM, Maruo H. Influence of natural bovine enamel roughness on bond strength after etching. *The Angle orthodontist*. 2010 May;80(3):562-9.
- 51.** Silva Costa SX, Becker AB, de Souza Rastelli AN, Monteiro Loffredo LdC, de Andrade MF, Bagnato VS. Effect of Four Bleaching Regimens on Color Changes and Microhardness of Dental Nanofilled Composite. *International Journal of Dentistry*. 2009; 2009:1-7.
- 52.** Soares LE, Lima LR, Vieira Lde S, Do Espirito Santo AM, Martin AA. Erosion effects on chemical composition and morphology of dental materials and root dentin. *Microscopy research and technique*. 2012; 75(6):703-10.
- 53.** Spandre P. Produção de óleo essencial e propagação vegetativa de *Casearia sylvestris* Swartz. Tese (Doutorado), Curitiba, Paraná: Universidade Federal do Paraná; 2010.
- 54.** Tanaka R, Shibata Y, Manabe A, Miyazaki T. Micro-structural integrity of dental enamel subjected to two tooth whitening regimes. *Archives of oral biology*. 2010; 55(4):300-8.
- 55.** Teles RP, Teles FRF. Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control?. *Brazilian Oral Research*. 2009; 23(Spec Iss 1):39-48.

- 56.** Wang W, Zhao J, Wang YH, Smillie TA, Li XC, Khan IA. Diterpenoids from *Casearia sylvestris*. *Planta medica*. 2009 ; 75(13):1436-41.
- 57.** Wang L, Francisconi LF, Atta MT, Dos Santos JR, Del Padre NC, Gonini A, Jr., et al. Effect of bleaching gels on surface roughness of nanofilled composite resins. *European journal of dentistry*. 2011; 5(2):173-9.
- 58.** Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhães AC, Sener B, Attin T. Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2008; 66: 225-230.
- 59.** Yu H, Wegehaupt FJ, Wiegand A, Roos M, Attin T, Buchalla W. Erosion and abrasion of tooth-colored restorative materials and human enamel. *Journal of dentistry*. 2009; 37(12):913-22.
- 60.** Xavier AFC, Cavalcanti AL, Montenegro RV, de Melo, JBCA. Avaliação in vitro da Microdureza do Esmalte Dentário após Exposição a Bebidas Isotônicas. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*. 2010; 10(2):145-150.
- 61.** Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rosing CK. Staining and calculus formation after 0.12% chlorhexidine rinses in plaque-free and plaque covered surfaces: a randomized trial. *Journal of applied oral science : revista FOB*. 2010;18(5):515-21.
- 62.** Zanet, CG; de Araújo, RM; de Araújo, M.A.M., Valera, MC; Pucci, CR. Acid fizzy drink: dissolution of enamel. *Odonto* 2010;18(35):6-10.

Anexas

ANEXO A – DADOS DE ALTERAÇÃO DE COR (ΔE^*)

TRATAMENTO SOLUÇÃO	EDI	EDCL	EDA
AD	1,45	6,47	5.94
	8,04	2,47	6.58
	2,09	6,24	5.18
	2,19	5,10	7.12
	1,09	3,25	4.02
	1,67	5,03	10.7
	0,29	13,15	3.62
	0,31	4,32	5.59
	0,17	3,95	15.63
	0,55	8,99	5.54
CL	0,88	10,29	8.32
	2,47	4,40	11.7
	0,86	7,20	3.5
	2,10	12,19	2.69
	2,31	7,30	5.78
	2,84	6,32	4.17
	0,81	13,68	5.74
	2,16	1,75	3.44
	2,60	14,57	4.70
	1,24	4,09	4.50
CS	3,32	3,59	3.19
	3,42	3,91	6.76
	3,84	4,02	12.30
	1,66	2,56	4.54
	4,66	9,33	3.19
	5,04	5,91	9.32
	6,33	7,80	2.67
	2,16	6,98	6.17
	5,42	6,37	8.5
	1,80	5,07	5.69

ANEXO B – TESTE DE NORMALIDADE PARA ALTERAÇÃO DE COR COM VALORES ORIGINAIS

A. Frequência por intervalos de classe							
Intervalos de classe	M-3s	M-2s	M-1s	Med.	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal:	0.44	5.40	24.20	39.89	24.20	5.40	0.44
Curva experimental:	0.00	2.22	31.11	45.56	12.22	6.67	2.22 ^o
Cálculo do Qui - quadrado			Interpretação				
Graus de liberdade:	4	A distribuição testada					
Valor do Qui – quadrado:	10.87	é não normal					
Probabilidade de H0:	2.8000%						

ANEXO C – MÉDIA DOS VALORES ORIGINAIS PARA ALTERAÇÃO DE COR

Fator Tratamento

Tr1	Tr2	Tr3
2,45	6,54	6,20

Fator Solução

AD	CL	CS
4,87	5,15	5,18

Fator Tratamento X Solução

	T1	T2	T3
AD	1,78	5,89	6,92
CL	1,82	8,17	5,45
CS	3,76	5,55	6,23

ANEXO D – DADOS DA RUGOSIDADE SUPERFICIAL

	T0			T1		
TRATAMENTO SOLUÇÕES	TR1	TR2	TR3	TR1	TR2	TR3
AD	2,55	2.11	1.39	2,40	3.39	5.82
	1,88	2.08	3.90	2,34	2.44	5.89
	2,87	1.05	2.06	3,16	1.68	3.62
	7,65	1.09	3.28	5,90	1.10	2.47
	3,80	9.85	3.70	4,83	11.84	4.07
	3,05	2.88	0.33	2,26	2.96	4.81
	1,95	3.67	4.63	2,37	2.65	1.98
	3,82	1.08	0.58	2,70	1.11	2.86
	4,98	7.89	1.19	3,34	6.58	2.78
	2,19	5.93	2.11	3,00	6.01	3.29
CL	7,65	2.08	0.68	2,29	2.15	3.89
	3,31	2.33	1.75	1,90	2.66	3.02
	4,49	1.3	1.84	4,95	1.13	2.13
	2,66	1.23	0.80	2,38	1.5	1.02
	7,73	0.82	0.77	5,38	1.27	2.48
	3,17	2.89	1.22	4,32	4.59	3.51
	3,73	2.55	1.02	2,96	1.75	3.19
	5,40	7.68	2.08	4,13	2.61	2.76
	3,18	0.39	1.04	3,79	0.29	4.48
	0,70	1.86	3.07	0,83	1.99	4.05
CS	4,98	1.83	0.88	3,65	2.11	3.31
	4,14	1.19	1.13	3,58	1.77	3.73
	3,69	1.75	2.15	3,57	2.11	3.16
	6,75	3.19	0.97	5,52	2.51	1.58
	0,64	0.19	0.82	4,22	0.65	4.26
	3,67	1.94	4.84	4,23	2.00	3.55
	3,13	1.74	0.47	2,98	1.93	1.01
	2,13	0.94	1.62	2,73	1.73	4.08
	3,57	7.77	1.04	1,03	8.67	1.70
	0,74	2.16	2.73	3,92	2.77	2.01