UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

WALTER RAUCCI NETO

**USO DO LASER ND:YAG NA PREVENÇÃO DE CÁRIE OCLUSAL NA DENTIÇÃO
DECÍDUA E PERMANENTE: ESTUDO *IN VIVO* E *IN VITRO***

-RIBEIRÃO PRETO-

-2013-

WALTER RAUCCI NETO

**USO DO LASER Nd:YAG NA PREVENÇÃO DE CÁRIE OCLUSAL NA DENTIÇÃO
DECÍDUA E PERMANENTE: ESTUDO *IN VIVO* E *IN VITRO***

Versão corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a
obtenção do título de Doutor em Ciências.

Programa: Odontopediatria

Área de Concentração: Odontopediatria

Orientadora: Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb

- 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.

Catálogo na Publicação

Serviço de Documentação Odontológica

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Raucci-Neto, Walter

Uso do laser Nd:YAG na prevenção de cárie oclusal na dentição decídua e permanente: estudo *in vivo* e *in vitro*. Ribeirão preto, 2013.

114 p : il. ; 30 cm

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Odontopediatria. A versão original se encontra disponível na Biblioteca da Unidade sede do Programa.

Orientador: Palma-Dibb, Regina Guenka.

1. Cárie dentária. 2. Dentição decídua.
3. Dentição permanente 3. Lasers.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Raucci-Neto W. **Uso do laser Nd:YAG na prevenção cárie oclusal na dentição decídua e permanente: estudo *in vivo* e *in vitro*.** Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Odontopediatria.

Data da aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

WALTER RAUCCI NETO

Dados Curriculares

Nascimento	26 de fevereiro de 1984, Ibitinga - SP
Filiação	Walter Raucci Júnior Maria Lúcia Zani Raucci
2003-2006	Curso de Graduação em Odontologia Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FORP/USP
2007-2009	Curso de Pós-Graduação <i>Strictu Sensu</i> em Dentística, nível Mestrado, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FORP/USP
2008-2009	Curso de Pós-Graduação <i>Lato Sensu</i> em Endodontia, especialização, Faculdade de Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP
2009-2013	Curso de Pós-Graduação <i>Strictu Sensu</i> em Ciências, nível Doutorado, Programa de Odontopediatria, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FORP/USP

Trabalho desenvolvido nos: Laboratório de Pesquisa em Laser e Laboratório de Dentística, do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP; Clínica de Pacientes Especiais, da Supervisão de Clínicas da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP; Laboratório de Espectroscopia Vibracional, do Departamento de Física da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP; Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura, do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos. Este trabalho recebeu o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processos 2009/07141-3 e 2010/02166-5.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

A Deus e os espíritos amigos, que me guiam e protegem, sustentando-me nas provas desta vida para que eu consiga seguir no caminho da luz.

À minha esposa, Larissa Moreira Spinola de Castro Raucci, por ser minha amiga, conselheira e companheira de todas as horas. Agradeço pelo apoio incondicional durante esta caminhada. Te amo!

Aos meus pais, Walter Raucci Júnior e Maria Lúcia Zani Raucci, fonte inesgotável de amor, carinho e compreensão, sempre me incentivando e iluminando meu caminho.

Às minhas irmãs, Andressa Raucci e Luciana Raucci, por sempre estarem presentes na minha vida, agradeço pela amizade, carinho e por todo o amor.

Aos meus avós maternos Waldomiro Zani e Yvone Francischini, meus grandes mestres na vida, pelo amor, apoio e incentivo que sempre me deram ao longo da minha caminhada. Reconheço todo o esforço e sacrifício de vocês para que eu chegasse até aqui.

Aos meus avós paternos, Walter Raucci e Dirce Raucci, que mesmo pela distância sempre demonstraram o carinho e apoio que só uma família poder oferecer.

Aos meus tios José Roberto Zani e Marta Franco da Rocha Zani, exemplos de honestidade, trabalho, respeito e caráter, minha sincera admiração.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha orientadora Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb.

Para mim, foi uma imensa honra e orgulho tê-la como orientadora durante
todos meus anos de formação acadêmica.

Agradeço pela confiança depositada e por me dar a oportunidade de trabalhar
ao seu lado me mantendo constantemente envolvido com a pesquisa.

Agradeço também pelas contribuições para meu crescimento pessoal e
profissional, sendo para mim um exemplo de honestidade, competência, dedicação
e moral.

Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, representada pelo Diretor Prof. Dr. Valdemar Mallet da Rocha Barros e pela Vice-Diretora Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva.

À Coordenação Geral da Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Arthur Belém Novaes Júnior.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva e também aos Profs. (as): Dr. Paulo Nelson Filho, Dra. Maria Cristina Borsatto, Dra. Raquel Assed Bezerra da Silva, Dra. Aldevina Campos de Freitas, Dra. Alexandra Mussolino de Queiroz, Dra. Andiará De Rossi, Dra. Kranya Victoria Díaz Serrano, Dra. Sada Assed, Dra. Mírian Aiko Nakane Matsumoto, Dr. José Tarcísio Lima Ferreira, Dr. Adílson Thomazinho, Dra. Maria Bernadete Sasso Stuaní, Dra. Maria da Conceição Pereira Saraiva e Dr. Fábio Lourenço Romano. Agradeço por todos os ensinamentos e troca de experiências.

Ao Chefe do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Paulo Nelson Filho.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo na pessoa do Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto.

Ao Chefe do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva.

À Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto.

À FAPESP (Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo), pela concessão do auxílio financeiro sob a forma de bolsa de estudo e auxílio pesquisa.

Aos Profs. Drs. Vinicius Rangel Geraldo Martins, Kranya Victoria Díaz Serrano e Fábio Lourenço Romano, membros da banca do meu exame de qualificação, meus agradecimentos pelas contribuições que permitiram a melhor redação e desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos do curso de Pós-Graduação em Odontopediatria: Camila Scatena, Cíntia Guimarães de Almeida, Daniel Galafassi, Danielle Torres Azevedo, Luciane Almeida do Carmo, Marcela Martin Del Campo Fierro, Paula Dariana Fernandes Ferreira, Rodrigo Alexandre Valério, Talitha de Siqueira Mellara, Elaine Machado Pinguero, Fernanda Regina Ribeiro Santos, Francisco Wanderley Garcia de Paula e Silva, Iliana Ferraz Sabbatini, Késsia Suênia Fidelis de Mesquita, Ligia

Maria Napolitano Gonçalves, Carolina Paes Torres Mantovani, Cristhiane Ristum Bagatin Rossi, Cristiane Tomaz Rocha, Fabrício Kitazono de Carvalho, Jaciara Miranda Gomes da Silva, Maristela Soares Swerts Pereira, Regina Aparecida Segatto Saiani, Rodrigo Teixeira Macri, Soraya Cheier Dib Gonçalves, Cristina Bueno Brandão, Kleber Cortês Bonifacio, Leonardo Bíscolo Pereira, Marcela C. D. Andruccioli, Marília Pacífico Lucisano, Marina Fernandes de Sena, Marta Maria Martins Giamatei Contente, Maya Fernanda Manfrin Arnez e Milena Silva Campos, pela amizade e apoio para o cumprimento desta etapa.

À Dra. Juliana Jendiroba Faraoni Romano, pela determinação à pesquisa e auxílio em todas as fases da realização desta tese. Agradeço também pela amizade que tornou o nosso trabalho muito mais agradável.

Ao Prof. Dr. Cesar Penazzo Lepri da Universidade de Uberaba (UNIUBE), um grande amigo deve sempre receber o reconhecimento necessário, agradeço pela amizade e pela oportunidade de trabalharmos juntos durante toda minha formação acadêmica.

À Dra. Jaciara Miranda Gomes da Silva, pela contribuição no desenvolvimento da etapa clínica deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luciano Bachmann do Departamento de Física da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto pelo auxílio no desenvolvimento dos experimentos de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.

À técnica Fátima Aparecida Rizoli, da Clínica de Pacientes Especiais da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pela enorme contribuição no desenvolvimento da etapa clínica deste trabalho.

À secretária Benedita Viana Rodrigues, da Clínica de Pacientes Especiais da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pela contribuição no desenvolvimento da etapa clínica deste trabalho.

À Isabel Cristina Galino Sola e Regiane Cristina Moi Sacilotto, secretárias da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

À Micheli Cristina Leite Rovanholo, Filomena Lelli Placciti e aos demais funcionários do Departamento de Clínica Infantil da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Aos Professores envolvidos no desenvolvimento das disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria, pelo empenho e dedicação em transmitir os conhecimentos para o amadurecimento dos alunos.

Ao Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto pelas orientações, ensinamentos e auxílio nas análises em microtomografia.

Ao técnico Reginaldo Santana da Silva, do Laboratório de Pesquisa em Endodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos, onde foi realizada a Microscopia Eletrônica de Varredura.

À Graziela Bianchi Leoni pela ajuda durante a realização dos experimentos com o microtomógrafo.

Aos professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

À diretoria, corpo docente e funcionários da Escola Estadual Hermínia Gugliano, agradeço pela disponibilização das salas e auxílio na realização da triagem de pacientes.

Aos pacientes voluntários desta pesquisa, assim como seus responsáveis, agradeço pela participação e confiança que tornaram possível o desenvolvimento deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

*"Você pode encarar o erro como uma besteira a ser esquecida,
ou como um resultado que aponta em uma nova direção."*

(Steve Jobs)

RAUCCI-NETO, W. **Uso do laser Nd:YAG na prevenção de cárie oclusal na dentição decídua e permanente: estudo *in vivo* e *in vitro***. 2013. 114p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

O presente estudo teve por objetivo avaliar longitudinalmente *in vivo* e *in vitro* os efeitos do laser Nd:YAG na prevenção de cárie oclusal na dentição decídua e permanente. Foram selecionadas 52 crianças de alto risco à cárie ($7,6 \pm 1,4$ anos). Os primeiros molares decíduos foram distribuídos entre os grupos controle negativo, controle positivo 1 (flúor fosfato acidulado – FFA) e controle positivo 2 (verniz fluoretado – VF). Os segundos molares decíduos e primeiros molares permanentes foram divididos entre os grupos experimentais: selante, irradiação laser ($100\text{mJ}/5\text{Hz}-0,5\text{W}$), irradiação laser + FFA e irradiação laser + VF. Os tratamentos foram aleatoriamente distribuídos entre os grupos experimentais e controles nos 4 quadrantes da cavidade bucal do paciente. Os pacientes foram submetidos a exames clínicos e radiográficos em 3, 6, 9, 12, 18 e 24 meses após o tratamento. As avaliações foram realizadas por três examinadores calibrados “cegos” aos tratamentos ($K=0,92$). Durante o período de avaliação os dentes decíduos esfoliados foram coletados e utilizados para os testes de microdureza, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e microscopia óptica (MO). 35 pacientes finalizaram o estudo e os dados das avaliações clínicas foram submetidos aos teste Q de Cochran ($\alpha=0,1\%$) e Tukey ($\alpha=5\%$). Na dentição decídua, foi observado que o laser e o selante proporcionaram as menores incidências de lesões de cárie do que o grupo controle negativo ($p<0,05$). À partir de

12 meses, foi observado um aumento das lesões de cárie do grupo laser, que se igualou aos demais grupos aos 24 meses. Na dentição permanente foi observado que o selante apresentou menores índices de formação de cárie do que os demais grupos ($p < 0,05$). Entretanto, à partir de 12 meses de acompanhamento, foi observado um aumento significativo das lesões de cárie formadas neste grupo. Os dados do FTIR foram submetidos aos testes ANOVA one-way ($\alpha = 0,1\%$) e Tukey ($\alpha = 5\%$). Foram observadas menores concentrações de carbonato (CO_3) no grupo laser ($0,98 \pm 0,06$) e as maiores concentrações no controle negativo ($1,47 \pm 0,31$) e no laser + FFA ($1,51 \pm 0,29$). A avaliação morfológica do esmalte foi realizada pela análise em MEV, sendo observado que todas as amostras apresentaram-se ligeiramente mais lisas quando comparadas as irradiadas somente com laser. No EDS não foram observadas diferenças na % de Ca, P e F entre todos os grupos estudados. Os dados de microdureza e MO foram submetidos aos testes Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,1\%$) e Tukey ($\alpha = 5\%$). Na microdureza foi observado que o selante ($249,86 \pm 7,15$) e a irradiação laser isolada ($262,44 \pm 22,69$) apresentaram os maiores valores de dureza em comparação ao controle - ($128,35 \pm 25,19$). Na MO foi observada menor área de esmalte desmineralizado no grupo laser isolado ($5,35\% \pm 5,38$) e laser + FFA ($10,35\% \pm 0,88$) quando comparado ao controle - ($72,56\% \pm 12,86$). Pode-se concluir que o laser Nd:YAG, independente de sua associação com fluoretos, promoveu um efeito preventivo para cárie oclusal de até 12 meses na dentição decídua (semelhante ao selante) e até 9 meses na permanente após sua aplicação.

Palavras-chave: Cárie dentária; dentição decídua; dentição permanente; lasers

ABSTRACT

ABSTRACT

RAUCCI-NETO, W. **Nd:YAG laser effect in caries prevention of primary and permanent dentition: *in vivo* and *in vitro* study**. 2013. 90p. Thesis (Doctoral) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

The aim of this study was to evaluate the effect of Nd:YAG laser irradiation alone or combined to fluoride on the occlusal surface of primary and permanent teeth. 52 children (age 7.6 ± 1.4 years) were selected to this study. The four quadrants in the subjects were randomly assigned to receive the controls and experimental treatments. 1st primary molar was the negative control, Acidulated Phosphate Fluoride (APF – positive control 1) or fluoride varnish (FV – positive control 2). 2nd primary molar and 1st permanent molar received resin sealant, laser irradiation (100mJ/5Hz–0.5W), APF + laser irradiation or FV + laser irradiation. Patients were followed-up to 24 months to evaluate the presence of white-spot lesions and/or caries cavities by three calibrated observers ($k=0.92$). Primary teeth that naturally exfoliated (in 1 year period) were collected, stored in deionized water and the surface area submitted to scanning electron microscopy (SEM), Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) and electron spectroscopy for chemical analysis (EDS). The occlusal subsurface was analyzed by cross-section Knoop microhardness and light microscopy to evaluate the caries lesions status. 35 patients completed the 24 months evaluation period. The clinical data were submitted to Cochran Q ($\alpha=0.1\%$) and Tukey ($\alpha=5\%$) tests. Primary teeth clinical results: laser alone group presented lower caries formation compared to negative control group ($p<0.05$). However the laser preventive effect decreased after 12 months. Permanent

teeth clinical results: the sealant group presented lower caries formation compared to the remaining groups ($p < 0.05$). However the sealant preventive effect decreased after 12 months. FTIR data were analyzed by one-way ANOVA ($\alpha = 0.1\%$) and Tukey ($\alpha = 5\%$) tests. Cross-section Knoop microhardness and light microscopy data were analyzed by Kruskal-Wallis test ($\alpha = 0.1\%$) followed by Tukey test ($\alpha = 5\%$). The images obtained with SEM and the percentage of elements calcium, phosphorus and fluoride were qualitatively evaluated by comparing the irradiated area with the control surface. FTIR analysis showed lower concentration of CO_3 on lased group (0.98 ± 0.06). Higher [] of CO_3 were observed on negative control group (1.47 ± 0.31) and laser combined with fluoride (1.51 ± 0.29). SEM analysis revealed that control samples showed a slightly smoother surface compared to lased groups. The EDS analysis revealed no difference in the Ca, P and F % among all studies groups. For microhardness was observed that sealant and laser irradiation alone (262.44 ± 22.69) showed significant higher values compared to control - group (128.35 ± 25.19). For light microscopy, it was observed significant lower caries lesion formation in laser alone ($5.35\% \pm 5.38$) and laser combined to APF ($10.35\% \pm 0.88$) to the negative control group ($72.56\% \pm 12.86$). Within the limitations of this study it can be concluded that Nd:YAG laser irradiation over one year period for primary dentition and over 9 months for permanent dentition, regardless fluoride association, modified enamel surface to successfully inhibits caries formation.

Keywords: Dental caries; primary teeth; permanente teeth; lasers

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama CONSORT sobre a forma de recrutamento, alocação, acompanhamento e análise dos sujeitos da pesquisa.....	45
Figura 2. Representação esquemática exemplificando a randomização dos grupos experimentais no paciente.	47
Figura 3. Representação esquemática da forma de avaliação e acompanhamento dos pacientes. Observe no detalhe à direita a ficha pela qual os avaliadores puderam registrar as condições clínicas de cada dente e assim atribuir o escore final utilizado para a comparação dos grupos.	52
Figura 4. Representação esquemática da metodologia utilizada no preparo e análise das amostras em microscopia óptica.	55
Figura 5. Representação esquemática da metodologia utilizada no preparo e análise das amostras por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.....	58
Figura 6. Representação esquemática da metodologia utilizada no preparo e análise das amostras por microdureza.....	59
Figura 7. Representação esquemática da metodologia utilizada no preparo e análise das amostras por MEV e EDS.....	61

Figura 8. Gráficos das porcentagens de lesões de mancha branca, lesões com cavidades e dentes hígidos para todos os grupos estudados da dentição decídua nos diferente períodos avaliados.....67

Figura 9. Gráficos das porcentagens de lesões de mancha branca, lesões com cavidades e dentes hígidos para todos os grupos estudados da dentição permanente nos diferente períodos avaliados.....71

Figura 10. Microdureza longitudinal em relação ao tratamento realizado. A-Selante; B-Laser; C-Laser + FFA; D-Laser + VF; N-Controle negativo; P1-FFA; P2-VF. (Mesma letra dentro das barras indica similaridade estatística).....73

Figura 11. Porcentagem da área cariada observada através de microscopia óptica entre os diferentes tratamentos realizados. A-Selante; B-Laser; C-Laser + FFA; D-Laser + VF; N-Controle negativo; P1-FFA; P2-VF. (Mesma letra dentro das barras indica similaridade estatística).....74

Figura 12. Imagens obtidas dos diferentes grupos no microscópio eletrônico de varredura. A-Selante; B-Laser; C-Laser + FFA; D-Laser + VF; E-Controle negativo; F-FFA; G-VF. (As trincas presentes, indicadas pelas setas, representam artefatos no preparo das amostras).....76

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Significância estatística entre os tratamentos aplicados nos dentes decíduos nos diferentes períodos de avaliação.....68

Tabela 2. Significância estatística entre os tratamentos aplicados nos dentes permanentes nos diferentes períodos de avaliação.....72

Tabela 3. Média e desvio padrão da razão carbonato/fosfato das amostras analisadas com FTIR de acordo com o tratamento realizado.....75

Tabela 4. Valores médios e desvios padrões da porcentagem dos elementos Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Flúor (F) presentes na superfície oclusal dos dentes decíduos submetidos aos diferentes tratamentos.....77

Tabela 5. Valores médios e desvios padrões da porcentagem dos elementos Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Flúor (F) presentes na superfície vestibular dos dentes decíduos submetidos aos diferentes tratamentos.....78

SUMÁRIO

RESUMO	xviii
ABSTRACT	xxi
LISTA DE FIGURAS	xxiv
LISTA DE TABELAS	xxvii
1. INTRODUÇÃO	33
2. PROPOSIÇÃO	40
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1 - Aspectos éticos.....	42
3.2 - Delineamento experimental.....	42
3.3 - Seleção da amostra.....	43
3.4 - Grupos experimentais	46
3.5 - Acompanhamento clínico longitudinal	50
3.6 - Análises <i>in vitro</i>	53
3.6.1 -Preparo das amostras para os testes laboratoriais.....	53
3.6.2 - Microscopia óptica (MO).....	54
3.6.3 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR).....	55
3.6.4 - Microdureza longitudinal.....	58
3.6.5 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva de raios-x (EDS)	60

3.7 - ANÁLISE DOS DADOS.....	61
4. RESULTADOS	64
4.1 - Avaliação clínica dos dentes decíduos.....	64
4.1.1 - Avaliação até 12 meses de acompanhamento	65
4.1.2 - Avaliação até 24 meses de acompanhamento	65
4.2 - Avaliação clínica dos dentes permanentes	68
4.2.1 - Avaliação até 12 meses de acompanhamento	68
4.2.2 - Avaliação até 24 meses de acompanhamento	69
4.3 - Análises <i>in vitro</i>	72
4.3.1 - Microdureza longitudinal.....	72
4.3.2 - Microscopia óptica (MO).....	73
4.3.3 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.....	74
4.3.3 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e e espectroscopia por energia dispersiva de raios-x (EDS)	75
5. DISCUSSÃO	80
6. CONCLUSÃO.....	92
7. REFERÊNCIAS	94
ANEXOS.....	101

1-INTRODUÇÃO

Baseados nos princípios contemporâneos, esforços têm sido direcionados para a redução do risco à cárie dentária através da adoção de medidas preventivas, bem como da motivação e conscientização do paciente sobre a relevância do contato profissional-paciente para o sucesso no controle da doença (Mjör et al., 2008).

O uso de fluoretos, por meio de dentifrícios e fluoretação da água de abastecimento para seu uso tópico, representa uma das medidas que interferem na progressão natural da lesão de cárie, uma vez que o fluoreto presente na cavidade bucal proporciona uma superfície de esmalte mais resistente à desmineralização (ten Cate, 2004). Entretanto, seus maiores benefícios são observados nas superfícies lisas de esmalte, não sendo seu efeito muito evidente na superfície oclusal (Bohannon, 1983). Nas fossas e fissuras a superfície é mais retentiva, favorecendo uma rápida instalação de lesões nestes sítios a partir do momento que o dente irrompe na cavidade bucal (Shaw, 2000; Borsatto et al., 2010).

Dessa forma, a aplicação de selantes nas fossas e fissuras tem sido considerada um importante método preventivo, na tentativa de impedir a instalação e/ou progressão de lesões de cárie nas superfícies oclusais (Gooch et al., 2009). O selante age como barreira física que impede o contato do esmalte com o meio bucal, e assim evita que haja instalação do biofilme nessas superfícies, ou mesmo se tenha substrato para o desenvolvimento da lesão (Simonsen & Neal, 2011). Contudo, clinicamente tem-se a dificuldade de se conseguir uma adequada retenção deste material ao esmalte dental, que pode ser influenciada pela contaminação do campo operatório, pela habilidade do profissional ou pela colaboração do paciente durante a

técnica, dificultado especialmente em crianças muito jovens, pacientes especiais e dentes recém-irrompidos (Hevinga et al., 2007; Borsatto et al., 2010).

Na tentativa de minimizar o tempo operatório, a sensibilidade da técnica, e consequentemente a possibilidade de falhas, novas abordagens na prevenção lesões de cárie têm sido desenvolvidas ou aprimoradas (Cochrane et al., 2010; James et al., 2010). Entre os diferentes métodos aplicados atualmente, a utilização da irradiação dos tecidos dentais com laser tem despertado um grande interesse por parte da comunidade científica (Antunes et al., 2006; Parker, 2007; Zezell et al., 2009; Bedini et al., 2010).

Os mecanismos de interação do laser com os tecidos duros dentais dependem dos parâmetros utilizados, tais como o comprimento de onda, potência, densidade de energia, densidade de potência, tempo de exposição, modo de emissão, duração do pulso, densidade de energia utilizada por pulso, taxa de repetição, diâmetro e características do feixe (Featherstone e Fried, 2001; Martens, 2011). Assim, é imprescindível que em qualquer procedimento no qual se utilize a irradiação laser as interações entre a luz e o tecido alvo sejam perfeitamente compreendidas para garantir procedimentos efetivos e seguros.

A possibilidade de se aumentar a resistência do esmalte dental à desmineralização após a irradiação por um laser foi demonstrada pela primeira vez em 1965 com um laser de rubi (Stern & Sognnaes, 1972; Stern et al., 1972). O laser pode ser utilizado para o aumento da resistência à desmineralização do esmalte dental de duas formas distintas: utilizando parâmetros ablativos ou utilizando parâmetros não ablativos (Pinheiro et al., 2010). Quando se utiliza uma densidade de energia ablativa no esmalte dental, o laser promove a fusão e resolidificação dessa superfície, sendo, portanto relacionada a uma alteração morfológica da

estrutura irradiada (Bedini et al., 2010). Por outro lado, quando se utiliza densidade de potência mais baixa, o efeito do laser não é ablativo, mas sim modificador da composição microestrutural e química do esmalte (Azevedo, 2010). Porém, até hoje a maneira exata da atuação do laser na diminuição da solubilidade do esmalte não foi completamente esclarecida.

Diferentes teorias têm sido propostas para explicar o aumento da resistência ácida do esmalte frente à irradiação com o laser. Todas se relacionam ao aumento de temperatura gerado no tecido durante a irradiação (Featherstone e Fried, 2001). Segundo, Fowler e Kuroda (1986) na faixa entre 100-650°C o aquecimento do esmalte provoca diminuição do conteúdo de água, perda parcial de carbonato e formação de pirofosfatos. Entre 650-1000°C são observados, crescimento dos cristais, formação de α -TCP e β -TCP, redução de OH^- e eliminação do carbonato. Entre 1100-1600°C, as fases α -TCP e β -TCP podem ser observadas juntamente com uma maior redução de OH^- . Nas duas faixas mais altas de temperatura, as fases de hidroxiapatita formadas apresentam produto de solubilidade maior do que o esmalte natural, o que aumenta a solubilidade dessa estrutura. Entre 100 e 650°C, as fases menos solúveis não são formadas e ocorre a redução de carbonato e formação pirofosfato, fases estas conhecidas por diminuir a solubilidade do esmalte. Portanto, alterações de temperatura entre 100 e 650°C tem sido descritas como a faixa interessante para as modificações induzidas pelo laser (Azevedo, 2010).

Nesse sentido, existe também a teoria, que descreve a possível influência da decomposição da matriz orgânica na redução da solubilidade (Oho & Morioka, 1990). Após aquecimento do esmalte em temperaturas entre 400 e 500°C ocorreria uma diminuição da permeabilidade e uma redução da solubilidade em relação ao

esmalte natural. Considerando-se que a decomposição das proteínas do esmalte acontece ao redor de 350°C, existe a possibilidade de que os produtos da decomposição da matéria orgânica obstruam os poros do esmalte e impeçam a penetração dos íons ácidos (Bachmann et al., 2004; Liu & Hsu, 2007).

Entretanto, ainda não é claro qual modificação do esmalte tem o efeito predominante, porém o mais provável é que essas alterações sugeridas aconteçam ao mesmo tempo e que o somatório dos seus efeitos resulte na inibição da cárie (Azevedo, 2010).

Com o aumento das pesquisas relacionadas à interação do laser com os tecidos duros, foi observado que o laser Nd:YAG pode ser empregado para o aumento da resistência ácida do esmalte (Castellan et al., 2007; Zezell et al., 2009). Este sistema apresenta um meio ativo de estado sólido, constituído por um cristal de Ítrio-alumínio-granada dopado com neodímio que emite luz com comprimento de onda localizado na faixa do infravermelho no espectro eletromagnético (1064 nm), o que o caracteriza para aplicações clínicas em Odontologia (Pinheiro, 2010).

A aplicação do laser Nd:YAG na prevenção de lesões de cárie já vem sendo estudada desde de 1974 (Yamamoto & Ooya, 1974), quando foram descritos os primeiros efeitos do laser na superfície de esmalte irradiada, que tornou-se mais resistente à descalcificação do que as não irradiadas (controle). Posteriormente, outros autores (Tagamori & Iwase, 1995) avaliaram as condições morfológicas da superfície irradiada e observaram que não houve uma fusão homogênea dos cristais de hidroxiapatita. Foi observado que geralmente isto ocorre em áreas limitadas, demonstrando que o selamento da superfície não é completo, e que quando aplicado em superfícies oclusais, apenas uma diminuição na profundidade dos sulcos e fissuras pode acontecer. Corroborando com estes achados Myaki e

colaboradores, em 1998, verificaram em MEV que o laser pulsado de Nd:YAG aplicado sobre a superfície oclusal de pré-molares promoveu um selamento total em fissuras largas, porém em estreitas e profundas o selamento foi parcial ou incompleto. Dessa forma, estudos (Antunes et al., 2006; Castellan et al. 2007; Bedini et al. 2010; Correa-Afonso et al., 2012a) tem sido direcionados para encontrar parâmetros de aplicação do laser Nd:YAG que promovam o aumento da resistência ácida do esmalte sem contudo, alterar sua integridade estrutural, ou seja, parâmetros não ablativos.

Tem sido demonstrado que a irradiação com laser associada à aplicação tópica de fluoretos poderia aumentar a resistência ácida pela maior incorporação de fluoretos (Nammour et al., 2003) e/ou maior transformação da hidroxiapatita em fluorapatita (Phan et al., 1999). Alguns autores (Oho & Morioka, 1990) especularam que a irradiação com o laser poderia promover a formação de microespaços no esmalte, o que facilitaria a incorporação dos íons flúor. Outros autores (Phan et al., 1999) discordaram que a irradiação com o laser induziria a formação da fluorapatita pela incorporação de fluoretos nas camadas superficiais do esmalte fundidas pelo aumento da temperatura. Zezell et al. (2009), estudando o efeito *in vivo* do laser Nd:YAG em fossas e fissuras, verificou que o esmalte tornou-se mais resistente com laser associado ao flúor fosfato acidulado. Porém, apesar da existência do sinergismo entre a luz laser e o fluoreto na diminuição da solubilidade do esmalte ter sido demonstrada, os mecanismos pelos quais estas alterações ocorrem, assim como sua profundidade (Delbem et al., 2003) e longevidade, precisam ser esclarecidos.

O estudo de novas terapias para a prevenção de cárie exige que as lesões desenvolvidas e pequenas alterações no conteúdo mineral da estrutura possam ser

identificadas. Entre os métodos desenvolvidos para mensuração das alterações minerais em estudos *in vitro*, a utilização das técnicas de microdureza em corte transversal (Castellan et al., 2007; Delbem et al., 2009), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (Correa-Afonso et al., 2012a) e microscopia óptica (Kamburoğlu et al., 2010) têm sido considerados métodos eficientes para esse tipo de medida. Para a avaliação dos aspectos morfológicos da estrutura dental irradiada, diversos métodos têm sido propostos, sendo que os mais utilizados são a microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (Azevedo, 2010; Bedini et al., 2010).

Apesar da existência de estudos *in vitro* e *in situ* demonstrando a possível ação do laser Nd:YAG no selamento de fossas e fissuras e em alterações químicas na estrutura do esmalte, estudos clínicos controlados nesta área são escassos. Diante do avanço tecnológico da terapia com o laser surge a possibilidade de uma alternativa para o selamento oclusal com a aplicação de selantes, na tentativa de minimizar a possibilidade de falhas do tratamento preventivo.

Portanto, tornam-se necessárias avaliações clínicas associadas à análises laboratoriais dos efeitos do uso do laser de Nd:YAG associado à fluoretos na prevenção de cárie no esmalte decíduo e permanente e assim determinar a longevidade destas alterações.

2-PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente estudo foram:

- Avaliar longitudinalmente a efetividade clínica do laser Nd:YAG na prevenção do desenvolvimento de lesões de cárie oclusal em molares decíduos e permanentes, associado ou não a fluoretos, em pacientes de alto risco à cárie.

- Avaliar, por meio de microdureza longitudinal, microscopia óptica (MO) e eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS) e de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), as alterações químicas, físicas e morfológicas do esmalte dos dentes decíduos de pacientes de alto risco à cárie, que receberam os tratamentos propostos e esfoliaram naturalmente.

3-MATERIAL E MÉTODOS

3-MATERIAL E MÉTODOS

3.1-Aspectos éticos

O presente estudo foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP e aprovado sob o número 2009.1. 489.58. 1 (Anexo 1). O estudo foi registrado no “Clinicaltrials.gov”, sob o número NCT 01727804 (Anexo 2).

3.2-Delineamento experimental

O estudo foi duplo-cego e realizado em duas fases: uma fase de tratamento e acompanhamento clínico dos pacientes durante 24 meses; e outra fase de testes laboratoriais, realizada após a esfoliação dos dentes decíduos.

O fator em estudo foi o tratamento da superfície oclusal para prevenir a formação de lesões de cárie em dentes decíduos e permanentes em 7 níveis:

Quatro grupos experimentais - aplicação do selante resinoso; irradiação com o laser Nd:YAG; aplicação tópica de flúor fosfato acidulado (FFA) associada ao laser Nd:YAG; verniz fluoretado (VF) associado ao laser Nd:YAG.

Três grupos controles – sem irradiação (negativo); FFA (positivo 1); VF (positivo 2).

As unidades experimentais foram compostas por um total de 52 pacientes, nos quais seus quadrantes (superior direito e esquerdo, inferior direito e esquerdo), compostos dos elementos dentais 1º molar decíduo, 2º molar decíduo e 1º molar permanente, foram distribuídos aleatoriamente nos grupos experimentais e controles da seguinte forma: os 1ºs molares decíduos foram selecionados para os grupos

controles; os 2^{os} molares decíduos e 1^{os} molar permanentes foram selecionados para os grupos experimentais (n inicial=52).

As variáveis de resposta quantitativas foram: condição clínica da superfície oclusal (hígido ou cariado), fratura ou perda do selante; microdureza da subsuperfície em diferentes profundidades; área de lesão formada (microscopia óptica) e proporção entre carbonato e fosfato (FTIR).

As variáveis de resposta qualitativas foram: a análise da morfologia da superfície por meio de MEV e a análise dos constituintes químicos do substrato por meio de EDS.

3.3-Seleção da amostra

Foram selecionadas 52 crianças com alto risco à cárie com idade entre 7 e 8 anos ($7,6 \pm 1,4$), ambos os gêneros (29 meninos e 23 meninas). O número de paciente utilizados foi calculado baseado no estudo anterior realizado por Zezell et al., 2009 e no cálculo realizado pelo power test, indicando um número mínimo de 32 pacientes.

Os pacientes foram selecionados por um avaliador calibrado utilizando os seguintes critérios de inclusão: alto risco à cárie; idade entre 7 e 8 anos; os dentes - 1^{os} e 2^{os} molares decíduos e 1^{os} molares permanentes hígidos, sem defeitos de esmalte, anomalias ou sinais de fluorose. O risco à cárie foi determinado de acordo com a dieta (obtidos através de diário alimentar – Anexo 3, sendo considerado um alto risco para os paciente com ingestão igual ou superior a três vezes ao dia de carboidratos e açúcares fora das principais refeições) (Nunn et al., 2009), fatores comportamentais (foi considerado de alto risco os pacientes com higiene bucal precária, portanto àqueles que realizavam a higienização bucal no máximo 2 vezes

ao dia), histórico familiar da doença cárie, acesso da criança a serviços de saúde e experiência prévia de lesões de cárie em superfícies lisas (vestibular/lingual/palatina) e proximais (mesial/distal) nos dentes anteriores.

Foram considerados critérios de exclusão para participação na pesquisa: crianças com cavidades nos 1^{os} molares decíduos, 2^{os} molares decíduos e/ou 1^{os} molares permanentes; paciente com alguma alteração sistêmica e/ou que fizessem uso de algum medicamento que interfira na secreção salivar; crianças de baixo risco à cárie; crianças com ausência de algum elemento dental necessário à pesquisa; e crianças que estavam (no momento da seleção) sob acompanhamento e/ou tratamento odontológico.

Para o procedimento de avaliação e seleção dos pacientes, foi realizada uma anamnese (identificação do paciente, história familiar, histórico médico-odontológico e exame clínico geral) junto aos pais ou responsável da criança. Para o exame clínico intra-bucal todos os dentes receberam profilaxia com pedra pomes e água e tomadas radiográficas interproximais. Após a seleção, foi levado ao conhecimento dos pais ou responsável pela criança um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 4) para que os mesmos autorizassem os pacientes a participar da pesquisa, assim como um termo de doação dos dentes decíduos para as análises *in vitro* realizadas após sua esfoliação.

Para o delineamento do presente trabalho foi seguido o guia de estudos clínicos randomizados CONSORT. A figura 1 representa o diagrama CONSORT que discrimina em detalhes a forma de recrutamento, alocação, acompanhamento e análise dos sujeitos da pesquisa.

Figura 1 - Diagrama CONSORT sobre a forma de recrutamento, alocação, acompanhamento e análise dos sujeitos da pesquisa.

3.4-Grupos experimentais

Foram alocados da seguinte maneira (baseados nos resultados obtidos por Azevedo et al., 2012):

Bloco 1 :

- 1º molar decíduo – nenhum tratamento (controle negativo)
- 2º molar decíduo – selante
- 1º molar permanente – selante

Bloco 2 :

- 1º molar decíduo – nenhum tratamento (controle negativo)
- 2º molar decíduo – irradiação com laser
- 1º molar permanente – irradiação com laser

Bloco 3 :

- 1º molar decíduo – aplicação tópica de FFA (controle positivo 1)
- 2º molar decíduo – aplicação tópica de FFA + irradiação com laser
- 1º molar permanente – aplicação tópica de FFA + irradiação com laser

Bloco 4 :

- 1º molar decíduo – aplicação de verniz fluoretado (controle positivo 2)
- 2º molar decíduo – aplicação de verniz fluoretado + irradiação com laser
- 1º molar permanente – aplicação de verniz fluoretado + irradiação com laser

A seleção do quadrante para cada bloco de tratamento foi realizada aleatoriamente para todos os paciente. A representação esquemática dos grupos experimentais está exemplificada na figura 2.

Figura 2 – Representação esquemática exemplificando a randomização dos grupos experimentais no paciente.

Controle negativo (N): nenhum tratamento foi realizado

Controle Positivo 1 (P1) (tratamento com FFA): Após a profilaxia das fossas e fissuras com pedra pomes e água foi realizado o isolamento relativo e a aplicação tópica com FFA a 1,23% (Gel de flúor fosfato acidulado pH 3,5 / Flugel, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) na superfície do esmalte com microbrush (Vigodente Coltene, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), e deixado por 4 minutos, após esse tempo, o excesso do

gel foi removido com algodão. O paciente foi orientado a permanecer 2 horas após a aplicação sem comer ou beber nada.

Controle Positivo 2 (P2) (tratamento com verniz fluoretado): após a profilaxia das fossas e fissuras com pedra pomes e água foi realizado o isolamento relativo e a aplicação tópica com verniz fluoretado (Duraphat, Colgate-Palmolive, Brasil), aplicado na superfície do esmalte com pincel descartável. O paciente foi orientado a permanecer 2 horas após a aplicação sem comer ou beber nada. Além disso para este dente foi orientado aguardar o período de 6 horas sem realizar a escovação (de acordo com as instruções do fabricante).

Aplicação do selante (A): foi realizado o isolamento absoluto do campo operatório, a profilaxia das fossas e fissuras com pedra pomes e água, condicionamento ácido da superfície com ácido fosfórico a 37% durante 30 segundos e a aplicação e fotopolimerização do selante resinoso Fluroshield (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil) de acordo com as instruções do fabricante. Após a polimerização, o selamento foi avaliado quanto à presença do material em todas as fossas e fissuras, ausência de bolhas de ar, adaptação marginal e também a tentativa de remoção do selante com uma sonda exploradora. O último passo da técnica foi a checagem da oclusão, e quando necessário, foi realizado o desgaste seletivo do material.

Laser Nd:YAG (B): após a profilaxia das fossas e fissuras com pedra pomes e água, foi realizado o isolamento relativo e a irradiação com o laser Nd: YAG no modo contato perpendicularmente a superfície de esmalte em toda a extensão da fissura

oclusal. O laser utilizado neste estudo foi o Smartfile (DEKA, Itália), que possui uma fibra de quartzo com diâmetro de 300µm. Este equipamento apresenta comprimento de onda de 1,064µm e comprimento de pulso de 50 a 550µs. Foi utilizado 50mJ de energia, 10Hz de frequência e potência de 0,5W, obtendo uma densidade de energia de 70,73 J/cm². O laser foi aplicado no modo contato num movimento de varredura por todas as fossas e fissuras, sendo a fibra mantida posicionada perpendicularmente à superfície oclusal durante todo o movimento. O tempo de irradiação foi padronizado em 30 segundos para todos os grupos. O tempo de irradiação utilizado foi selecionado através de estudo piloto prévio.

FFA+ Laser Nd:YAG (C): após a profilaxia das fossas e fissuras com pedra pomes e água, foi realizado o isolamento relativo e uma aplicação tópica com FFA a 1,23% na forma de gel na superfície do esmalte com microbrush e deixado por 4 minutos. Após esse período, foi realizada a irradiação com o laser Nd: YAG de modo idêntico ao descrito para o grupo B. O excesso do gel foi removido com algodão e o paciente orientado a permanecer 2 horas sem comer ou beber nada.

VF + Laser Nd:YAG (D): após a profilaxia das fossas e fissuras com pedra pomes e água foi realizado o isolamento relativo e a aplicação tópica com verniz fluoretado a 5% na superfície do esmalte com pincel descartável. Após 4 minutos da aplicação do verniz, foi realizada a irradiação com o laser Nd: YAG de modo idêntico ao descrito para o grupo B. O paciente foi orientado a permanecer 2 horas após a aplicação sem comer ou beber nada.

Os pacientes receberam orientações de higienização no início, e durante as rechamadas. Além disso, foi fornecido a cada paciente um kit contendo uma escova

de dentes (Colgate Smiles Infantil, Colgate-Palmolive, Brasil), um tubo de dentifrício (Colgate Baby 550 ppm de fluoreto, Colgate-Palmolive, Brasil) e uma caixa de fio dental (Johnson & Johnson Reach Essencial 100m, Johnson & Johnson, Brasil). Esse kit foi fornecido aos pacientes a cada rechamada.

3.5 - Acompanhamento clínico longitudinal

Os dentes foram avaliados clinicamente após 3, 6, 9, 12, 18 e 24 meses do tratamento por três examinadores calibrados “cegos” aos tratamentos realizados. Foram utilizadas análises radiográficas (realizadas a cada 6 meses e/ou quando os avaliadores julgaram necessário para eliminar possíveis dúvidas de diagnóstico) e inspeção visual dos elementos dentais. Foram realizados ainda os testes de vitalidade pulpar e percussão, para verificar a normalidade dos tecidos pulpar e periapical. Para a avaliação clínica, a cada rechamada, foi realizada a profilaxia com pedra-pomes e água e os exames clínicos foram realizados sem referência a dados anteriores. As tomadas radiográficas foram realizadas com o mesmo equipamento de raios-X (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) da Clínica da FORP/USP e com o auxílio de um posicionador de filmes radiográficos infantil (Insubello, Londrina, PR, Brasil) para a padronização das mesmas. As películas foram reveladas em um processador automático (A/T 2000 Air Techniques, Estados Unidos) com o mesmo propósito.

A calibração dos avaliadores foi realizada para que os mesmos utilizassem escores para avaliação clínica. Para o grupo experimental de selantes foi realizada a comparação por três categorias (adaptado de Yildiz et al., 2004): 1 – totalmente retido (TR), 2 – parcialmente perdido (PP), 3 – totalmente perdido (TP). A presença clínica de cárie na superfície oclusal foi registrada de acordo com os seguintes

códigos, adaptados do Sistema de Escore Visual de Ekstrand et al., (1997): V0 – nenhuma ou mudança mínima da translucidez do esmalte após a secagem a ar, V1 – presença de opacidade e descoloração visível após secagem a ar, V3 – perda localizada da integridade do esmalte opaco ou com alteração de cor e/ou descoloração acinzentada da dentina subjacente, V4 – Cavitação do esmalte com exposição da dentina. A presença radiográfica de cárie foi registrada de acordo com os seguintes códigos, adaptados de Huth et al., (2008): R0 – Sem radiolucidez, R1 – Radiolucidez em esmalte até a junção amelodentinária, R2 – Radiolucidez que se estende até metade da dentina, R3 – Radiolucidez que se estende mais da metade da dentina.

Após a obtenção dos escores específicos, o avaliador atribuiu aos dentes examinados um escore final que foi considerado da seguinte forma: quando os escores fossem V0 e R0 a superfície oclusal foi diagnosticada como hígida e o escore final foi 0. Quando foram obtidos os escores V1, V3 ou V4 e R1 a R3, a superfície oclusal foi diagnosticada como cariada e o escore final foi 1. Nos pacientes diagnosticados com lesões de cárie, o tratamento foi realizado de acordo com a necessidade da superfície dental em questão (lesão de mancha branca ou lesão com cavidade). Os dentes que receberam os tratamentos propostos ainda foram avaliados quanto à vitalidade (utilizando testes térmicos) e presença de alteração periapical (avaliado por testes de percussão e radiográfico).

A representação esquemática do acompanhamento longitudinal e forma de avaliação dos pacientes está exemplificada na figura 3.

Figura 3 – Representação esquemática da forma de avaliação e acompanhamento dos pacientes. Observe no detalhe à direita a ficha pela qual os avaliadores puderam registrar as condições clínicas de cada dente e assim atribuir o escore final utilizado para a comparação dos grupos.

3.6 - Análises *in vitro*

Na segunda chamada (6 meses) foram entregues aos responsáveis oito potes plásticos com tampa e oito frascos de 10ml de soro fisiológico 0,9% (Equiplex, Brasil), que possuíam validade de 24 meses. Estes materiais foram utilizados pelos responsáveis pelo paciente para o armazenamento dos molares decíduos esfoliados, que foram mantidos em geladeira até a entrega ao pesquisador. Cada pote foi identificado para cada molar decíduo esfoliado e os responsáveis receberam instruções verbais e na forma de figura sobre a identificação dos elementos dentais e armazenamento.

Após a esfoliação dos dentes decíduos, foram realizados os testes *in vitro* para identificar possíveis alterações residuais a longo prazo produzidas pelos diferentes tratamentos. Foram utilizados 5 fragmentos de cada grupo para os testes de microdureza longitudinal, MO e FTIR. Para MEV e EDS foram utilizados 3 espécimes de cada grupo. Os dentes utilizados permaneceram na cavidade bucal do paciente no mínimo 6 meses e no máximo 1 ano ($8,4 \pm 2,78$ meses) após a aplicação dos tratamentos. Inicialmente os dentes foram limpos com curetas periodontais e água deionizada para remoção de restos de tecido periodontal e sangue e então foram armazenados em geladeira a 4°C.

3.6.1 - Preparo das amostras para os testes laboratoriais: as amostras foram fixadas com cera utilidade (Epoxiglass, Diadema, SP, Brasil) em um suporte de acrílico que foi adaptado a um equipamento de corte seriado (Minitom DK-2610, Struers A/S, Copenhagen, Dinamarca), dotado de um disco diamantado (Isomet, Buehler, Estados Unidos). Sob refrigeração com água deionizada, foi realizada a secção dos dentes no sentido vestibulo-lingual, obtendo-se fragmentos mesial e distal de cada elemento dental. Os fragmentos foram aleatoriamente distribuídos

para as análises em microdureza, microscopia eletrônica de varredura, microscopia óptica e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.

3.6.2 - Microscopia óptica (MO): para esta análise foram obtidas secções de 0,5mm de espessura da região central de fossas e fissuras, utilizando disco diamantado adaptado à máquina de corte. Posteriormente estas secções foram planificadas e polidas manualmente utilizando lixas de carbetto de silício (Norton Abrasivos Ltda, São Paulo, SP, Brasil) de granulação 400 a 1200, até se obter uma espessura entre 80-100µm. As secções foram analisadas em um microscópio óptico (Axiostar plus, Zeiss, Alemanha) utilizando água deionizada como meio de embebição. Foram capturadas e digitalizadas imagens utilizando a objetiva de 5x, que proporcionou um aumento final de 50 vezes, da região do sulco central da amostra. Estas imagens foram utilizadas para a análise da subsuperfície do esmalte utilizando o software AxioVision Rel. 4.8.2, no qual foi possível quantificar a área desmineralizada em µm², caso presente na amostra. Para obter a porcentagem de lesão de cárie de cada espécime foi obtida a medida da área total de esmalte analisada (AT) e a área desmineralizada/cariada (AC), sendo o valor final a razão entre as duas medidas. Portanto a % de área de esmalte desmineralizada = $(AC / AT) \times 100$. A representação esquemática da metodologia utilizada na avaliação por microscopia óptica está exemplificada na figura 4.

Figura 4 – Representação esquemática da metodologia utilizada no preparo e análise das amostras em microscopia óptica.

3.6.3 – Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR):
para esta análise, pó de esmalte foi obtido da região mais profunda das cicatrículas e fissuras na superfície oclusal de cada espécime. Foram obtidas três amostras do substrato em três diferentes regiões das fossas e fissuras e também foram obtidas três amostras da superfície lisa livre do espécime (vestibular ou língua/palatina), que

foram utilizadas como controle. Para este procedimento foram utilizadas brocas de aço 1/4 em baixa-rotação para a produção de pequena quantidade de pó do substrato. As brocas foram limpas com álcool isopropílico a cada amostra da superfície de esmalte e substituídas a cada novo espécime. Com o objetivo de remover somente o esmalte superficial, o procedimento foi realizado com o auxílio de uma lupa estereoscópica em um aumento de 10X. A quantidade de pó de cada espécime não foi mensurada porque a medida experimental a ser utilizada no espectrômetro de FTIR independe da massa da amostra. Após a obtenção das raspas de esmalte, estas foram posicionadas sobre o detector de ATR (Attenuated Total Reflectance) de diamante, com diâmetro de 2 mm (Durascope, Smiths Detection, Estados Unidos). Este acessório está acoplado ao espectrômetro com transformada de Fourier (Nicolet 380, Nicolet, Estados Unidos).

Foram analisados cinco espécimes de cada grupo, entretanto diferentemente das demais análises, para os grupos controles, no FTIR só foi possível utilizar espécimes do grupo controle negativo para a comparação entre os tratamentos propostos. A medida experimental consistiu na aquisição do espectro de absorvância na região entre $4000\text{-}400\text{cm}^{-1}$ com resolução de $0,5\text{cm}^{-1}$ e 32 varreduras para cada espectro adquirido. Foram identificadas 2 bandas, PO(4) (fosfato) e CO(3) (carbonato), sendo estas utilizadas para descrever as diferenças na composição química das superfícies de esmalte analisadas. Foram registradas para análise as razões entre a concentração de carbonato e fosfato de cada amostra de esmalte obtida. Como em todo espécime foram obtidas raspas removidas em triplicata, foram gerados 3 espectros de absorção (3 razões de CO(3)/PO(4)) para a área controle e 3 espectros para a área tratada. Foi realizado uma média dos 3 espectros para obter a medida da área teste e da área controle. O valor final

utilizado para comparação entre os diferentes tratamentos foi a razão final entre a média da área teste e a média da área controle, sendo que os grupos que apresentaram maiores valores dessa razão estavam relacionados a maior concentração de carbonato e menor concentração de fosfato e vice versa. A representação esquemática da metodologia utilizada na avaliação por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier está exemplificada na figura 5.

Figura 5 – Representação esquemática da metodologia utilizada no preparo e análise das amostras por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.

3.6.4 – Microdureza longitudinal: a metade do espécime não utilizado nas análises anteriores, tiveram a sua superfície lateral polida e então foram fixados em matrizes de resina acrílica. Utilizando um paralelômetro (ELQuip, São Carlos, SP, Brasil) a parede da secção do fragmento foi mantida paralela à superfície da matriz. Foi utilizado um microdurômetro (Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2000,

Japão), que possui um penetrador de diamante para dureza Knoop (KHN). Foi aplicada uma carga de 25gf com duração de 10 segundos, de maneira que a ponta do penetrador permanecesse paralela à subsuperfície do esmalte. As penetrações foram realizadas no fundo do sulco central da amostra. A primeira marcação foi realizada 20 μ m abaixo da superfície e as marcações seguintes foram realizadas a 40 e 60 μ m na mesma direção. Para cada amostra foram realizadas 7 seqüências das 3 medidas, com 100 μ m de distância uma da outra, sendo uma central e 3 sequencias de cada lado. A média dos valores de microdureza foram utilizados para camporação entre os grupos. A representação esquemática da metodologia utilizada na avaliação por microdureza está exemplificada na figura 6.

Figura 6 – Representação esquemática da metodologia utilizada no preparo e análise das amostras por microdureza.

3.6.5 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva de raios-x (EDS): os espécimes foram imersos em solução de glutaraldeído (2,5%) tamponado com cacodilato de sódio (0,1 M) com pH 7,4 por doze horas a 4°C. Após este período, os espécimes foram lavados com água deionizada por um minuto. Posteriormente foi realizada a limpeza em cuba ultrasônica (Ultrasonic Cleaner T-1449-D, Odontobras, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e água deionizada por cinco minutos; e por fim os espécimes foram secos com papel absorvente. A desidratação foi realizada em séries crescentes de etanol 25, 50 e 75% por 20 minutos cada, 95% por 30 minutos e 100% por 60 minutos. Cada grupo teve as amostras fixadas em *stubs*, utilizando fita adesiva apropriada, de duas maneiras: com a superfície oclusal voltada para face superior (área tratada) e com a superfície lisa (vestibular ou lingual/palatina) voltada para a face superior (área controle). Uma vez que as amostras foram fixadas e estabilizadas, estas foram metalizadas com cobertura de ouro. O Microscópio Eletrônico de Varredura JSM T330A (JEOL Ltd, Tokyo 190-0012, Japão) foi utilizado para este experimento, operando em 20 KV. Foi realizada a varredura de toda a superfície para verificar as alterações causadas na superfície de esmalte, e as imagens mais representativas foram obtidas em diferentes aumentos.

Durante a análise em MEV, utilizando a área de cerca de 0,45 mm², com aumento de 150x, foram selecionadas áreas do sulco central para realizar a análise de elementos químicos por EDS. Foi realizada uma varredura dos espécimes na área irradiada (fossas e fissuras) e não irradiada (superfícies livres).

A representação esquemática da metodologia utilizada na avaliação por MEV e EDS está exemplificada na figura 7.

Figura 7 – Representação esquemática da metodologia utilizada no preparo e análise das amostras por MEV e EDS.

3.7 – Análise dos dados

Para a análise dos dados do acompanhamento clínico longitudinal foi realizada a média entre os escores finais de cada elemento dental para cada avaliador. Estes dados foram submetidos aos testes Q de Cochran ($\alpha=0,1\%$) e Tukey ($\alpha=5\%$), para comparação entre os tratamentos e os diferentes períodos de avaliação. Ao término de cada avaliação foram aleatoriamente reavaliados 10% da amostra para analisar a reprodutibilidade intra e inter-examinador, que foi calculada utilizando o teste Cohen's Kappa. Os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o programa de análise de dados SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., Estados Unidos).

Os dados de FTIR foram submetidos aos testes one-way ANOVA ($\alpha=0,1\%$) e Tukey ($\alpha=5\%$). Os dados de microdureza e MO foram submetidos aos testes Kruskal-Wallis ($\alpha=0,1\%$) e Tukey ($\alpha=5\%$). Os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o software de análise de dados SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., Estados Unidos).

4-RESULTADOS

A análise da reavaliação de 10% da amostra foi utilizada para verificar a reprodutibilidade dos examinadores. Foi verificado, utilizando o teste Cohen's Kappa, excelente reprodutibilidade intra ($k=0,92$) e inter-examinador ($k=0,86$).

4.1-Avaliação clínica dos dentes decíduos

Os dados relacionados à condição clínica dos dentes decíduos avaliados foram descritos no texto apenas em dois períodos de avaliação (12 e 24 meses), para facilitar a comparação dos resultados entre os diferentes grupos estudados. A figura 8 apresenta as porcentagens de lesões de mancha branca, cavidades e superfícies hígidas em todos os períodos de avaliação em relação aos tratamentos propostos. A tabela 1 apresenta a similaridade estatística entre os grupos estudados em todos os momentos avaliados.

Figura 8 – Gráficos das porcentagens de lesões de mancha branca, lesões com cavidade e dentes hígidos para todos os grupos estudados da dentição decídua nos diferente períodos avaliados. A – selante; B – laser; C – FFA+laser; D – VF+laser; N – negativo; P1 – FFA; P2 – VF.

Tabela 1. Significância estatística entre os tratamentos aplicados nos dentes decíduos nos diferentes períodos de avaliação.

Tratamento	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses
A-Selante	Aa	Aa	Aa	Aa	Ab	Bb
B-Laser	Aa	Aa	Aa	Aa	Bb	Bb
C-Laser+FFA	Aa	Ba	Bb	Bb	Bb	Bb
D-Laser+VF	Aa	Ba	Bb	Bb	Bb	Bb
N-Negativo	Aa	Bb	Bb	Bb	Bb	Bb
P1-FFA	Aa	Ba	Bb	Bb	Bb	Bb
P2-VF	Aa	Ba	Bb	Bb	Bb	Bb

Mesma letra maiúscula indica similaridade estatística entre os tratamentos (coluna).

Mesma letra minúscula indica similaridade estatística entre os períodos de avaliação (linha).

4.1.1-Avaliação até 12 meses de acompanhamento

Aos 12 meses de acompanhamento dos pacientes, foi possível observar 28 pacientes com atividade de cárie. Destes pacientes foram verificados que todos apresentavam lesões de mancha branca ativas e somente 9 apresentavam cavidades em esmalte. Na análise dos dados observou-se diferença estatística significativa entre os tratamentos propostos no período avaliado ($p < 0,001$), sendo que o aumento na formação de lesões de cárie até 12 meses foi diferente entre os grupos estudados.

O grupo B (laser) apresentou a menor incidência de lesões de cárie com valores estatisticamente significantes em relação ao controle negativo (N). Entretanto nos grupos C (laser + FFA) e D (laser + VF) foram observadas maiores incidências de atividade de cárie sendo, os grupos em questão, estatisticamente

semelhantes a todos os grupos controles ($p < 0,05$). O grupo A (selante) apresentou resultados estatisticamente semelhantes aos do grupo B.

Com relação ao tipo de lesão de cárie, o grupo B (laser) foi o único que não apresentou nenhuma cavidade em esmalte e também apresentou a menor incidência de lesões de mancha branca. Entretanto no grupo controle negativo (N) foi observada a maior incidência de cavidades e lesões de mancha branca, seguidos dos grupos P1 (FFA) e P2 (VF). O grupo A (selante) apresentou incidência de cavidades semelhante ao do grupo D, entretanto para lesões de mancha branca foi semelhante ao grupo B.

Com relação ao momento de formação das lesões de mancha branca, foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre o aumento na formação das lesões e o período de avaliação nos diferentes tratamentos propostos ($p < 0,001$). Nos grupos N (negativo), P1 (FFA) e P2 (VF) foi possível observar que a formação de lesões de cárie aumentaram significativamente à partir de 3 meses até os 12 meses de acompanhamento ($p < 0,05$). Para os grupos C (laser + FFA) e D (laser + VF), foi observado um aumento significativo de lesões a partir de 6 meses de avaliação que persistiu até o período de 12 meses ($p < 0,05$). No grupo A (selante) e B (laser) o aumento de lesões de cárie foi significativo somente à partir de 12 meses de avaliação clínica.

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada em relação ao tempo para a formação de lesões cavitadas entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Entretanto, no B (laser) e C (laser + FFA), não foram observadas lesões de cárie com cavidade durante o período avaliado. No grupos N, P1, P2 e D, somente foram observadas cavidades após um período de 6 meses. O grupo A (selante) apresentou lesões de cárie com cavidade somente após 12 meses de avaliação.

4.1.2-Avaliação até 24 meses de acompanhamento

Aos 24 meses de acompanhamento dos pacientes, foi possível observar 30 pacientes com atividade de cárie, sendo que todos apresentavam lesões de mancha branca ativas e 16 apresentavam cavidades em esmalte. Na análise dos dados não foram observadas diferenças estatísticas significantes na formação de lesões de cárie entre os tratamentos propostos no período de 24 meses de avaliação ($p>0,05$), ou seja, o aumento de lesões de cárie aos 24 meses foi semelhante para todos os grupos.

Com relação ao tipo de lesão de cárie, os grupos A (selante), B (laser) e C (laser + FFA) apresentaram os menores índices de cavidades em esmalte. Os demais grupos apresentaram maior incidência de cavidades em esmalte. Entretanto a incidência de lesões de mancha branca foi semelhante entre todos os grupos.

Com relação ao momento de formação das lesões de mancha branca, foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre o aumento na formação das lesões e o período de avaliação (12 a 24 meses) para os diferentes tratamentos propostos ($p<0,001$). No grupo A (selante) e B (laser) esse aumento foi estatisticamente significativo ($p<0,05$) somente a partir dos 18 meses de avaliação clínica. Nos demais grupos foi possível observar que a formação de lesões de cárie aumentaram significativamente a partir dos 9 meses ($p<0,05$).

Para o tempo necessário para a formação de cavidades houveram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos experimentais ($p<0,001$). Para os grupos A (selante) e B (laser) o aumento de lesões de cárie com cavidade foi significativamente maior somente à partir de 18 meses de acompanhamento. Entretanto para todos os grupos controles (controle negativo, controle positivo 1 e

controle positivo 2) e os grupos laser associado aos fluoretos (C e D) o aumento de cavidades foi significativo à partir de 9 meses de acompanhamento.

4.2-Avaliação clínica dos dentes permanentes

Como descrito no item 4.1, os dados relacionados à condição clínica dos dentes permanentes avaliados foram descritos apenas em dois períodos de avaliação (12 e 24 meses), para facilitar a comparação dos resultados entre os diferentes grupos estudados. A figura 9 apresenta os gráficos para comparação da porcentagem de lesões de mancha branca, cavidades e superfícies hígidas em todos os períodos de avaliação em relação aos tratamentos propostos. A tabela 2 apresenta a comparação estatística entre os grupos estudados em todos os momentos avaliados.

Figura 9 – Gráficos das porcentagens de lesões de mancha branca, lesões com cavidade e dentes hígidos para todos os grupos estudados da dentição permanente nos diferente períodos avaliados.

Tabela 2. Significância estatística entre os tratamentos aplicados nos dentes permanentes nos diferentes períodos de avaliação.

Tratamento	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses
A-Selante	Aa	Aa	Aa	Aa	Bb	Bb
B-Laser	Aa	Aa	Bb	Bb	Bb	Bb
C-Laser+FFA	Ba	Bb	Bb	Bb	Bb	Bb
D-Laser+VF	Ba	Ba	Bb	Bb	Bb	Bb

Mesma letra maiúscula indica similaridade estatística entre os tratamentos (coluna).

Mesma letra minúscula indica similaridade estatística entre os períodos de avaliação (linha).

4.2.1- Avaliação até 12 meses de acompanhamento

Aos 12 meses de acompanhamento dos pacientes, foi possível observar 25 pacientes com atividade de cárie. Destes pacientes foram verificados que todos apresentavam lesões de mancha branca ativas e somente 1 apresentou cavidade em esmalte. Na análise dos dados pode-se observar diferença estatística significativa entre os tratamentos propostos ($p < 0,001$), ou seja, o aumento na formação de lesões de cárie até 12 meses foi diferente entre os grupos estudados.

O grupo A (selante) apresentou a menor incidência de lesões de cárie. O grupo C (laser + FFA) entretanto, apresentou a maior incidência de lesões de cárie, sendo estatisticamente semelhante aos valores obtidos para os grupos D (laser + VF) e B (laser).

Com relação ao tipo de lesão de cárie, o grupo B (laser) foi o único que apresentou cavidades em esmalte e também apresentou uma alta incidência de lesões de mancha branca semelhante aos grupos C (laser + FFA) e D (laser + VF). O grupo A (selante) apresentou a menor incidência de lesões de mancha e nenhuma cavidade em esmalte.

Com relação ao momento de formação das lesões de mancha branca, observou-se diferenças estatisticamente significantes entre o aumento na formação das lesões até o período de 12 meses de avaliação nos diferentes tratamentos propostos ($p < 0,001$). Os grupos B (laser), C (laser + FFA) e D (laser + VF) apresentaram maior formação de lesões de mancha branca a partir de 9 meses de avaliação.

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada em relação ao tempo para a formação de lesões com cavidade entre os grupos experimentais até o período de 12 meses ($p > 0,05$).

4.2.2 - Avaliação até 24 meses de acompanhamento

Aos 24 meses de acompanhamento dos pacientes foi possível observar 33 pacientes com atividade de cárie, sendo que todos apresentavam lesões de mancha branca ativas e apenas 8 apresentavam cavidades em esmalte. Na análise dos dados não foi verificada diferença estatística significativa na formação de lesões de cárie entre os tratamentos propostos no período de avaliação ($p > 0,05$), ou seja, o aumento de lesões de cárie aos 24 meses foi semelhante para todos os grupos.

Com relação ao tipo de lesão de cárie não existiram diferenças na incidência de cavidades e lesões de mancha branca formadas entre os grupos estudados aos 24 meses de avaliação ($p > 0,05$).

Com relação ao momento de formação das lesões de mancha branca, pode-se verificar diferenças estatisticamente significantes no período de avaliação (12 a 24 meses) nos diferentes tratamentos propostos ($p < 0,001$). Para todos os grupos estudados esse aumento foi significativamente maior a partir dos 18 meses de avaliação clínica ($p < 0,05$).

Diferenças estatisticamente significantes foram observadas em relação ao tempo necessário para a formação de cavidades entre os grupos experimentais ($p < 0,001$). Para todos os grupos estudados esse aumento foi significativamente maior a partir dos 18 meses de avaliação clínica ($p < 0,05$).

4.3- Análises *in vitro*

4.3.1- Microdureza longitudinal

Na análise estatística dos dados pode-se observar diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,001$). Os grupos A (selante - $249,86 \pm 7,15$) e B (laser - $262,44 \pm 22,69$) apresentaram valores de microdureza significativamente ($p < 0,05$) maiores do que os grupos N (controle negativo - $128,35 \pm 25,19$) e P2 (controle positivo 2 - $132,46 \pm 30,73$). Entretanto os grupos C (laser + FFA - $224,37 \pm 22,61$) e D (laser + VF - $211,67 \pm 40,68$) não apresentaram diferenças estatisticamente significantes dos grupos controles (Figura 10).

Figura 10 – Microdureza longitudinal em relação ao tratamento realizado. A-Selante; B-Laser; C-Laser + FFA; D-Laser + VF; N-Controle negativo; P1-FFA; P2-VF. (Mesma letra dentro das barras indica similaridade estatística).

4.3.2- Microscopia óptica (MO)

Na análise dos dados pode-se observar diferença estatística significativa na porcentagem de esmalte desmineralizado entre os grupos estudados ($p < 0,001$). Valores significativamente ($p < 0,05$) menores de esmalte desmineralizado foram observados no grupo B (laser - $5,35\% \pm 5,38$) e C (laser + FFA - $10,35\% \pm 0,88$) em relação ao controle negativo ($72,56\% \pm 12,86$). Entretanto o grupo A (selante - $26,66\% \pm 26,93$) e D (laser + VF - $34,79 \pm 39,88$) não apresentaram diferenças

estatisticamente significantes dos grupos controles. A figura 11 representa a porcentagem de esmalte cariado em cada grupo analisado.

Figura 11 – Porcentagem da área cariada observada através de microscopia óptica entre os diferentes tratamentos realizados. A-Selante; B-Laser; C-Laser + FFA; D-Laser + VF; N-Controle negativo; P1-FFA; P2-VF. (Mesma letra dentro das barras indica similaridade estatística).

4.3.3- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

No FTIR foram identificadas 2 bandas, PO_4 (fosfato) e CO_3 (carbonato), e sua razão foi utilizada para descrever as diferenças na composição química das superfícies de esmalte analisadas. Na análise dos dados observou-se diferença significativa entre os grupos analisados ($p < 0,001$). Foram observadas menores concentrações de carbonato nas amostras do grupo B (laser - $0,98 \pm 0,06$), sendo estes valores estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) do grupo N (controle negativo - $1,47 \pm 0,31$) que apresentou a maior concentração de carbonato. O grupo D (laser +

VF - $1,51 \pm 0,29$) apresentou valores estatisticamente semelhantes aos encontrados para o grupo N. Os grupos A (selante - $1,30 \pm 0,15$) e C (FFA + laser - $1,21 \pm 0,15$) apresentaram valores semelhantes a todos os grupos analisados. A média dos valores da razão entre carbonato e fosfato das amostras podem ser visualizados na tabela 3.

Tabela 3. Média e desvio padrão da razão carbonato/fosfato das amostras analisadas com FTIR de acordo com o tratamento realizado.

Tratamento	CO(3)/PO(4)
Selante	1,306 ($\pm 0,155$) ab
Laser	0,987 ($\pm 0,064$) a
FFA + Laser	1,210 ($\pm 0,155$) ab
VF + Laser	1,513 ($\pm 0,294$) b
Grupo controle negativo	1,477 ($\pm 0,310$) b

Mesma letra indica similaridade estatística.

4.3.4- Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva de raios-x (EDS)

Na análise das imagens obtidas em MEV foi possível observar uma superfície ligeiramente mais lisa em todos os grupos em comparação com o grupo de laser. Entretanto nas amostras dos grupos irradiados com laser (independente da associação com o flúor) não foram observados sinais de fusão, cristalização ou fendas (figura 12). Foi identificada em todas as amostras a presença de trincas, mesmo nas amostras em que não foram realizados tratamentos (grupo controle negativo), que nestes casos foram identificados como artefatos de técnica no preparo das amostras (mais precisamente na desidratação das amostras).

Figura 12 – Imagens obtidas dos diferentes grupos no microscópio eletrônico de varredura. A-Selante; B-Laser; C-Laser + FFA; D-Laser + VF; E-Control negativo; F-FFA; G-VF. (As trincas presentes, indicadas pelas setas, representam artefatos de técnica no preparo das amostras).

As Tabelas 4 e 5 apresentam a porcentagem de cálcio, fósforo e flúor encontrados por EDS nos diferentes grupos estudados. Pode-se observar um quantidade semelhante de íons para os diferentes grupos, independente da superfície analisada.

Tabela 4 – Valores médios e desvios padrões da porcentagem dos elementos Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Flúor (F) presentes na superfície oclusal dos dentes decíduos submetidos aos diferentes tratamentos.

Oclusal			
Tratamento	Ca	P	F
Selante	34,93 ($\pm 11,08$)	15,73 ($\pm 1,19$)	5,74 ($\pm 2,08$)
Laser	35,89 ($\pm 6,84$)	16,45 ($\pm 1,78$)	6,09 ($\pm 2,87$)
FFA+laser	33,25 ($\pm 6,53$)	15,67 ($\pm 0,56$)	5,64 ($\pm 1,11$)
VF+laser	32,74 ($\pm 6,03$)	16,11 ($\pm 1,61$)	6,22 ($\pm 1,08$)
Controle negativo	31,86 ($\pm 7,60$)	14,77 ($\pm 1,93$)	4,07 ($\pm 0,19$)
FFA	32,87 ($\pm 5,28$)	14,79 ($\pm 0,89$)	6,96 ($\pm 1,38$)
VF	31,34 ($\pm 6,91$)	16,04 ($\pm 0,75$)	5,62 ($\pm 1,45$)

Tabela 5 – Valores médios e desvio padrão da porcentagem dos elementos Cálcio (Ca), Fósforo (P) e Flúor (F) presentes na superfície vestibular dos dentes decíduos submetidos aos diferentes tratamentos.

Vestibular			
Tratamento	Ca	P	F
Selante	34,78 ($\pm 4,23$)	15,95 ($\pm 2,24$)	6,17 ($\pm 3,25$)
Laser	34,95 ($\pm 8,43$)	15,60 ($\pm 0,94$)	6,12 ($\pm 1,25$)
FFA+laser	37,48 ($\pm 5,64$)	16,71 ($\pm 0,31$)	5,22 ($\pm 1,48$)
VF+laser	36,86 ($\pm 1,82$)	16,05 ($\pm 1,64$)	6,04 ($\pm 1,49$)
Controle negativo	35,94 ($\pm 9,40$)	15,83 ($\pm 0,74$)	5,98 ($\pm 1,79$)
FFA	35,74 ($\pm 10,20$)	14,58 ($\pm 2,04$)	5,58 ($\pm 2,31$)
VF	36,14 ($\pm 14,56$)	12,81 ($\pm 0,94$)	8,62 ($\pm 1,19$)

5-DISCUSSÃO

Com os conhecimentos atuais sobre a doença cárie, abordagens mais apropriadas e efetivas vem sendo realizadas, considerando sua instalação, desenvolvimento, progressão e prevenção. Apesar desse fato, ainda hoje permanece como a doença bucal de maior prevalência na população mundial, principalmente entre os pacientes infantis (Dummer et al., 1990). Dentre as superfícies dentais mais acometidas pela cárie a superfície oclusal é mais expressiva no índice de lesões, e por esse motivo, diferentes métodos de prevenção tem sido estudados (Kidd, 2010; Correa-Afonso et al., 2012b; Azevedo et al., 2012; Chen et al., 2012; Zhan et al., 2012; Ritter et al., 2013).

A irradiação do esmalte dental com laser é uma das atuais técnicas estudadas para a prevenção de lesões de cárie, uma vez que têm sido relacionada ao aumento de sua resistência ácida frente aos desafios cariogênicos (Yamamoto & Ooya, 1974; Tagomori & Iwase, 1995; Castellan et al., 2007; Bedini et al., 2010; Azevedo et al., 2012). A hipótese do esmalte irradiado com laser promover a prevenção de cárie é atribuída a diferentes fatores, como a redução da permeabilidade, modificações na composição química e/ou na morfologia superficial desta estrutura (Featherstone e Fried, 2001; Tepper et al., 2004). A diminuição da permeabilidade do esmalte pela fusão e recristalização obtida pela irradiação em altas energias do laser, foi considerada durante muito tempo como um fator essencial necessário para a prevenção da formação de lesões de cárie (Stern et al., 1972). Entretanto, Borggreven et al., (1980) avaliando o esmalte dental irradiado com altas energias, observaram que esta condição na realidade promove um aumento da permeabilidade do esmalte. Posteriormente diferentes estudos (Tagomori & Iwase,

1995; Chen e Huang, 2009; Bedini et al., 2010) foram realizados e obtiveram resultados semelhantes, sendo ainda observado que potências acima de 1W podem provocar alterações indesejáveis na superfície do esmalte, como rachaduras e áreas de fusão irregulares separadas por fendas. Como as alterações morfológicas do esmalte (derretimento e recristalização) estão relacionadas com sua irradiação utilizando altas potências do laser (maiores do que 1W), no presente trabalho foi utilizado 0,5W para promover somente alterações químicas e/ou ultraestruturais no esmalte dental de dentes decíduos e permanentes. Protocolos semelhantes ao do presente estudo foram utilizados por Azevedo et al., (2012) e Correa-Afonso et al., (2013), sendo que nestas avaliações foram obtidos resultados satisfatórios para o aumento da resistência ácida do esmalte de dentes decíduos e permanentes respectivamente.

O laser Nd:YAG utilizado neste estudo apresenta comprimento de onda de 1,064 μm , sendo portanto mais absorvido por tecidos pigmentados. Como uma tentativa de aumentar sua absorção pelos tecidos dentais e minimizar a possibilidade de injúrias ao tecido pulpar, foram realizados estudos associando sua irradiação a substâncias pigmentadas, como tinta nanquim azul (Tagomori & Morioka, 1989; Jennett et al., 1994; Gelskey et al., 1998) ou carvão triturado (Zezell et al., 2009). Entretanto, as substâncias utilizadas para este fim, são derivadas do carbono e quando submetidas a altas temperaturas ocorrem reações químicas com a formação de subprodutos com efeitos tóxicos ao organismo (Gelskey et al., 1998). Além disso, altas temperaturas no esmalte dental aumentam a possibilidade de ocorrer alterações morfológicas da superfície como fendas e áreas irregulares relacionadas à sua fusão (Chen e Huang, 2009). Portanto, no presente estudo, assim como nos trabalhos de Bedini et al., (2010), Azevedo et al., (2012); Correa-

Afonso et al., (2012b) e Correa-Afonso et al., (2013) não foi utilizado nenhum tipo de fotossensibilizante para a irradiação dos pacientes, presumindo então, uma maior penetração da luz no esmalte dental com modificações em sua subsuperfície. Neste sentido, poderia ser considerado ainda, o potencial risco de dano ao tecido pulpar pela penetração da luz laser através do esmalte e dentina. Entretanto, Beldüz et al., (2010) avaliando os efeitos histopatológicos da irradiação do laser Nd:YAG no tecido pulpar de incisivos de coelhos, observaram que energias menores que 4W não provocam alterações significativas na polpa dental. No presente trabalho todos os dentes avaliados (durante todos os períodos de avaliação) responderam positivamente ao teste de vitalidade e negativamente ao teste de percussão, indicando normalidade do tecido pulpar.

Estudos avaliando o efeito da associação do laser aos fluoretos (Bahar e Tagomori, 1994; Huang et al., 2001; Zezell et al., 2009), comprovaram uma maior incorporação de íons flúor no esmalte irradiado, e dessa forma aumentaram sua resistência ácida frente à desafios cariogênicos. Além disso, foi descrita a possibilidade do esmalte irradiado apresentar a capacidade de reter os íons flúor por maior período de tempo em comparação ao esmalte sem tratamento (Nammour et al., 2003). Clinicamente, estudos demonstraram a possibilidade de minimizar a progressão de lesões de mancha branca em pacientes sob tratamento ortodôntico (Harazaki et al., 2001) e na superfície oclusal (Firoozmand et al., 2007), quando a aplicação do laser sobre o esmalte dental é associada ao FFA. De forma semelhante, uma avaliação clínica randomizada (Zezell et al., 2009) apresentou resultados favoráveis na associação de fluoretos à irradiação com o laser Nd:YAG nas superfícies oclusais, sendo observada uma redução de 39,2% na formação dessas lesões. Entretanto, no presente estudo, a associação do laser aos fluoretos

não apresentou melhores resultados clínicos do que os grupos controles (para os dentes decíduos), sendo que as lesões iniciais em esmalte desenvolveram-se em cavidades em menos de 6 meses. Além disso, nas análises *in vitro* obtidas no presente estudo, também não foram encontrados resultados favoráveis para a associação do laser aos fluoretos. Os resultados insatisfatórios da associação de fluoretos ao laser obtidos neste estudo podem estar relacionados ao protocolo utilizado, que foi diferente de estudos anteriores (Harazaki et al. 2001; Zezell et al., 2009; Firoozmand et al., 2007). Como no presente estudo, a irradiação do esmalte foi realizada simultaneamente à aplicação do material fluoretado (gel e/ou verniz) sobre a superfície oclusal, a assim pode ter ocorrido uma interferência na absorção da luz laser pelo tecido dental, resultando em uma interação mais superficial do laser no esmalte, cujos efeitos podem ter sido facilmente removidos pelo desgaste natural do dente. Resultados favoráveis para a prevenção de lesões de cárie em dentes decíduos foram observados neste estudo somente quando o laser foi aplicado isoladamente, uma vez que neste grupo o aumento na formação de lesões de mancha branca e com cavidades só foram evidenciadas a partir dos 12 meses de avaliação.

Para os dentes permanentes, foi observado um aumento de lesões de cárie para o grupo laser isolado a partir de 9 meses de acompanhamento (diferente dos 12 meses observados para dentes decíduos), ou seja, o efeito mais duradouro na prevenção de cárie foi obtido para a dentição decídua. Este efeito diferencial do laser no esmalte decíduo e permanente pode estar relacionado às diferenças estruturais entre as duas dentições, sugerindo a necessidade de diferentes protocolos restauradores e preventivos para cada substrato (Wang et al., 2006; De Menezes Oliveira et al., 2010). Neste sentido, Correa-Afonso et al., 2013,

observaram resultados favoráveis na inibição da desmineralização de dentes permanentes utilizando 1W de potência do laser Nd:YAG. Portanto, provavelmente no presente estudo a potência de 0,5W empregada pode ter sido insuficiente para promover modificações mais efetivas no esmalte de dentes permanentes. Por outro lado, em estudo clínico randomizado (Zezell et al., 2009), em que a superfície oclusal de pré-molares e molares permanentes foram irradiados com 0,6W associado ao FFA, foi observado a efetividade do tratamento no período de 12 meses para a prevenção de lesões de cárie. Entretanto, a comparação dos resultados do presente estudo é dificultada pela diferença encontrada com relação aos parâmetros e protocolos utilizados no trabalho de Zezell et al., 2009, uma vez que estes autores utilizaram corante sobre a superfície dental e o fluoreto foi aplicado após a irradiação com o laser. Assim, estas condições podem ter interferido na longevidade dos efeitos do laser nos dentes permanentes.

Considerando o efeito da aplicação de fluoretos com relação ao tempo de avaliação, foi observado aumento significativo de lesões de cárie após 6 meses de avaliação nos grupos controles, ou seja, foi observado que uma única aplicação anual de fluoreto (FFA e/ou verniz fluoretado) não foi suficiente para a prevenção de lesões de cárie em pacientes de alto risco, uma vez que para se obter o efeito preventivo com fluoretos deve ser considerada a frequência de sua aplicação. Este resultado corrobora com os trabalhos de Zimmer et al., (1999) e Arruda et al., (2012) que observaram resultados favoráveis na prevenção de cárie quando o verniz fluoretado foi aplicado 2 vezes no período de 1 ano em pacientes de alto risco.

Com relação ao efeito preventivo do selante, neste estudo, foi observado que o aumento de cavidades foi significativo somente após 12 meses da aplicação do material, tanto em dentes permanentes como em dentes decíduos. Resultado

semelhante foi observado em estudo anterior (Antonson et al., 2012), sendo que as falhas desta técnica de prevenção foram observadas de 12 a 24 meses após sua aplicação. Somado a isso, pode-se observar uma associação entre o índice de falhas dos selantes com a formação de lesões de cárie em pacientes de alto risco ao longo do tempo (Simecek et al., 2005). Assim, fica evidente que os selantes precisam de um acompanhamento periódico em pacientes de alto risco, para não se tornarem sítios de desenvolvimento de lesões de cárie, em função de falhas inerentes à aplicação e ao desgaste natural deste material, o que torna muitas vezes necessária a sua reaplicação.

Os resultados de estudos *in vitro* investigando os efeitos do laser Nd:YAG na microdureza do esmalte dental, são divergentes e inconclusivos. Diversos autores observaram não haver alteração da dureza na superfície irradiada (Majori et al., 2005; Bedini et al., 2010), enquanto que outros estudos apontaram uma redução na microdureza das amostras irradiadas (Kuramoto-Júnior et al., 2001). A diminuição da microdureza do esmalte foi associada à presença de fissuras profundas que tornam frágeis a estrutura do esmalte irradiado e não necessariamente ao efeito da irradiação. No presente estudo foi observado que as amostras que receberam a irradiação laser de forma isolada, apresentaram os maiores valores de microdureza em relação ao grupo em que nenhum tratamento foi realizado. Na literatura, resultados favoráveis na microdureza de dentes decíduos e permanentes são encontrados tanto na associação do laser Nd:YAG aos fluoretos (Banda et al., 2011; Azevedo et al., 2012) quanto na sua aplicação isolada (Korytnick et al., 2006; Castelan et al., 2007; Correa-Afonso et al., 2013). Os resultados do presente trabalho relacionados a maior dureza do esmalte irradiado com laser, poderiam refletir os resultados clínicos observados no período de 12 meses, ou seja, o esmalte

irradiado apresentou maior resistência ácida e sofreu uma menor perda de minerais para o meio bucal, mantendo as características de um esmalte sadio. De forma semelhante, quando foram verificados os dados obtidos nos grupos controles, pode-se observar uma menor dureza do esmalte subsuperficial e comparativamente aos resultados clínicos indicam que estas superfícies foram mais acometidas pelo processo de desmineralização, indicando uma superfície mais susceptível à formação de cavidades.

Diferentes estudos investigaram as modificações que os lasers promovem nos esmaltes decíduo e permanente através da microscopia óptica (Tavares et al., 2012; Corrêa-Afonso et al., 2012b; Azevedo et al., 2012; Correa-Afonso et al., 2013). Tavares et al., (2012) verificaram que o laser de Argônio foi mais efetivo do que o laser Nd:YAG para a prevenção de lesões de cárie em esmalte permanente, uma vez que as menores áreas desmineralizadas foram observadas em suas amostras. Entretanto em estudo *in vitro* realizado por Correa-Afonso et al., (2012b) o efeito do laser Nd:YAG foi comparado aos lasers CO₂ e Er:YAG, sendo que estes autores observaram que os lasers CO₂ e Nd:YAG apresentaram os melhores resultados, uma vez que foram observadas menores áreas de desmineralização nas amostras irradiadas com estes lasers. Resultados semelhantes foram obtidos no estudo *in situ* de Correa-Afonso et al., (2013), no qual os autores, comparando os lasers de CO₂, Er:YAG e Nd:YAG no esmalte permanente, observaram menores áreas de desmineralização com os lasers CO₂ e Nd:YAG. Azevedo et al. (2012), compararam os efeitos do laser Nd:YAG associado ou não aos fluoretos no esmalte de dentes decíduos, sendo que o laser foi aplicado isolado ou associado ao FFA e ao verniz fluoretado, apresentando ainda um controle negativo e dois positivos (somente FFA e somente verniz fluoretado) para a comparação dos tratamentos. Os autores

observaram que os grupos experimentais (laser isolado e associado aos fluoretos) e os grupos controles positivos (FFA isolado e verniz fluoretado isolado) apresentaram menores áreas de desmineralização do que o controle negativo. No presente estudo, corroborando com os resultados dos estudos anteriormente descritos, foi observada uma menor área de desmineralização nos elementos dentais irradiados com laser Nd:YAG em comparação aos dentes em que não foram realizados nenhum tipo de tratamento, justificando inclusive os maiores valores de microdureza deste grupo.

Atualmente a espectroscopia de infravermelho tem sido utilizada para avaliar alterações na estrutura química do esmalte dental humano quando irradiado pelo laser (Antunes et al., 2006). No presente estudo a análise química do esmalte foi realizada através da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), que identifica compostos químicos pela interação do comprimento de onda emitido entre 4000 e 400 cm^{-1} para o substrato analisado. Os espectros de absorção identificados, são constituídos pela somatória das bandas de absorção originárias dos compostos químicos presentes no substrato. Diferentemente da espectroscopia Raman, a FTIR permite uma leitura superficial da amostra, o que é extremamente importante para o tipo de análise realizado neste estudo, uma vez que as alterações nos tecidos irradiados podem ser identificadas a poucos micrômetros de sua superfície (Correa-Afonso et al., 2012a).

As variações da estrutura química do esmalte frente à irradiação laser, contemplam a diminuição na quantidade de água e carbonato do tecido e a condensação dos íons ácidos formando o pirofosfato (Fowler e Kuroda, 1986). Na literatura foi descrito que durante a desmineralização do esmalte, o carbonato pode substituir a hidroxila ou o fosfato no desenvolvimento dos cristais de apatita

(Robinson et al., 2000). Uma vez que o carbonato está presente nestas condições, tem sido sugerido que ocorra uma desorganização dos centros destes cristais, tornando esta estrutura menos estável e assim mais suscetível à desmineralização (Robinson et al., 2000). Portanto a diminuição do carbonato, que é um composto presente no esmalte, pode ser considerada um fator primordial no aumento de sua resistência ácida, para promover uma estrutura menos solúvel aos ácidos. Oho & Morioka, (1990) observaram que a redução na quantidade de carbonato refletiu no aumento da resistência ácida do esmalte irradiado com Nd:YAG, uma vez que esta redução pode aprimorar a estrutura cristalina. No presente estudo, foram observadas as menores concentrações de carbonato nas amostras irradiadas com laser Nd:YAG isoladamente, e comparativamente aos resultados clínicos, existiu uma relação entre esta diminuição e o aumento da resistência do esmalte à formação de lesões de cárie. Com relação ao grupo selante, este apresentou maior concentração de carbonato e foi estatisticamente semelhante aos grupos laser associado ao FFA e ao VF. A semelhança na concentração de carbonato para estes grupos pode estar relacionada a ausência de modificações químicas na estrutura cristalina do esmalte, que puderam ser identificadas no grupo laser isolado, portanto, estes grupos tiveram comportamento semelhante ao controle negativo.

Nas imagens de MEV das amostras irradiadas com laser, não foram observadas alterações morfológicas na superfície do esmalte como fissuras, fendas ou fusão. Entretanto, estudos anteriores (Chen e Huang, 2009; Bedini et al., 2010), relatam que as superfícies de esmalte irradiado com laser Nd:YAG apresentam áreas fusionadas, fissuras e fendas em todos os espécimes analisados. A ausência de alterações morfológicas observadas no presente estudo, pode estar relacionada à baixa densidade de energia utilizada para a irradiação dos dentes e ao fato que,

diferentemente dos demais estudos, as amostras foram analisadas no mínimo 6 meses após sua irradiação. Portanto, mesmo que a energia utilizada neste estudo pudesse ter alterado a morfologia superficial do esmalte, estas alterações foram removidas pelo desgaste natural dos elementos dentais, uma vez que os mesmos permaneceram em oclusão e em função na cavidade bucal do paciente. Na análise dos elementos químicos pelo EDS, foram observadas porcentagem de cálcio, fósforo e flúor semelhante entre todos os grupos e superfícies analisadas. Estes resultados provavelmente podem estar relacionados com as mesmas condições observadas na MEV, ou seja, o desgaste natural dos dentes pode ter removido a superfície tratada. Entretanto, mesmo não sendo identificadas alterações no esmalte pela MEV e EDS, os resultados deste estudo são importantes para determinar a longevidade das alterações provocadas pelo laser, neste caso no período de 12 meses.

Na literatura científica relacionada a irradiação do esmalte dental para prevenção de lesões de cárie, são encontrados dados conflitantes, o que dificulta a sua comparação com os resultados obtidos no presente estudo. A dificuldade de se encontrar padrões nestes resultados pode estar relacionada aos diferentes tipos de equipamentos utilizados, as variações no parâmetros e metodologias de cada estudo, assim como o uso de diferentes substratos (dentes decíduos e permanentes). Outro aspecto relacionado é que poucos artigos científicos descrevem a densidade de potência e/ou densidade de energia utilizada, e assim fica difícil uma comparação mais precisa entre os tratamentos realizados. Entretanto, assim como os estudos anteriormente discutidos, o presente trabalho sugere que a irradiação com laser Nd:YAG apresentou-se como um método efetivo e capaz de melhorar as propriedades químicas e ultraestruturais do esmalte dental, preservando suas características, mesmo que por um determinado período de tempo. Ainda, os

resultados deste estudo sugerem que o laser deve ser reaplicado em intervalos de 6 a 9 meses para a prevenção de cárie em pacientes de alto risco. A grande vantagem do uso do laser à aplicação do selante de fossas e fissuras está relacionada ao fato do esmalte irradiado (em condições não ablativas) não apresentar riscos ao acúmulo de biofilme, como ocorre em casos em que existe fratura do selante, facilitando o desenvolvimento de lesões cariosas. A maior divergência entre os resultados obtidos neste estudo e aqueles descritos na literatura está relacionada à associação do laser Nd:YAG com a aplicação tópica de flúor, uma vez que este tratamento não apresentou efeito preventivo para a formação de lesões de cárie, com o protocolo utilizado. É importante ressaltar que os resultados deste estudo refletem, diferentemente da maioria dos estudos anteriores, os efeitos de um processo de desmineralização gradual e natural das lesões de cárie ao longo do tempo. Portanto, ainda são necessários mais estudos padronizados *in vitro*, *in situ* e *in vivo* para confirmar a periodicidade que as irradiações devem ser realizadas para se obter o efeito preventivo a longo prazo, assim como a associação eficaz entre os diferentes métodos preventivos.

Por fim, apesar dos efeitos positivos observados para a aplicação do laser Nd:YAG na prevenção do desenvolvimento de lesões de cárie, deve-se ser considerar que a doença cárie necessita de uma abordagem multifatorial e direcionada à condição de risco do paciente. Assim, no tratamento preventivo, é necessário avaliar também a importância da modificação dos hábitos do paciente do que simplesmente a associação de métodos a serem utilizados tanto pelo próprio paciente como pelo cirurgião-dentista.

6-CONCLUSÃO

6-CONCLUSÃO

Com base nos resultados do presente estudo pode-se concluir que:

- O uso do laser Nd:YAG no esmalte de dentes decíduos e permanentes constituiu-se um método efetivo na prevenção de cárie oclusal em pacientes de alto risco à cárie.
- O uso do laser Nd:YAG associado aos fluoretos, pelo protocolo de aplicação utilizado no presente estudo, não apresentou efeito sinérgico na prevenção de cárie oclusal na dentição decídua e permanente.
- A longevidade do efeito preventivo da irradiação do esmalte foi de 12 meses para a dentição decídua e 9 meses para dentição permanente, quando o laser foi aplicado isoladamente com 0,5W.
- A irradiação do laser Nd:YAG promoveu alterações químicas e ultraestruturais no esmalte decíduo, que proporcionaram um aumento de sua resistência ao processo de desmineralização.

7-REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

Antonson SA, Antonson DE, Brener S, Crutchfield J, Larumbe J, Michaud C et al. Twenty-four month clinical evaluation of fissure sealants on partially erupted permanent first molars: glass ionomer versus resin-based sealant. J Am Dent Assoc 2012 Feb;143(2):115-22.

Antunes A, de Rossi W, Zezell DM. Spectroscopic alterations on enamel and dentin after nanosecond Nd:YAG laser irradiation. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2006 Aug;64(5):1142-6.

Arruda AO, Senthamarai Kannan R, Inglehart MR, Rezende CT, Sohn W. Effect of 5% fluoride varnish application on caries among school children in rural Brazil: a randomized controlled trial. Community Dent Oral Epidemiol 2012 Jun;40(3):267-76.

Azevedo DT. Avaliação *in vitro* da resistência ácida e da permeabilidade do esmalte dental decíduo irradiado com laser Nd:YAG associado ou não ao flúor. [Dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2010.

Azevedo DT, Faraoni-Romano JJ, Derceli Jdos R, Palma-Dibb RG. Effect of Nd:YAG laser combined with fluoride on the prevention of primary tooth enamel demineralization. Braz Dent J 2012; 23(2):104-9.

Bachmann L, Baffa O, Gomes ASL, Zezell DM. Chemical origin of the native ESR signals in thermally treated enamel and dentin. Physica B 2004; 349(1-4):119-23.

Bahar A, Tagomori S. The effect of normal pulsed Nd-YAG laser irradiation on pits and fissures in human teeth. *Caries Res* 1994;28(6):460-7.

Banda NR, Vanaja Reddy G, Shashikiran ND. Evaluation of primary tooth enamel surface morphology and microhardness after Nd:YAG laser irradiation and APF gel treatment--an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent*. 2011 Summer;35(4):377-82.

Bedini R, Manzon L, Fratto G, Pecci R. Microhardness and morphological changes induced by Nd:Yag laser on dental enamel: an in vitro study. *Ann Ist Super Sanita* 2010;46(2):168-72.

Beldüz N, Yilmaz Y, Ozbek E, Kalkan Y, Demirci T. The effect of neodymium-doped yttrium aluminum garnet laser irradiation on rabbit dental pulp tissue. *Photomed Laser Surg* 2010 Dec;28(6):747-50.

Bohannon H. Caries distribution and the case for sealants. *J Public Health Dentistry* 1983;33:200-4.

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

Borsatto MC, Thomaz MY, Contente MM, Gomes-Silva JM, Mellara Tde S, Galo R, Palma-Dibb RG. Bonding agent underneath sealant: shear bond strength to oil-contaminated. *Braz Dent J* 2010 Jan;21(1):50-4.

Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, Lopes RM, Mendes FM, De P Eduardo C et al. In vitro evaluation of enamel demineralization after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on primary teeth. *Photomed Laser Surg* 2007 Apr;25(2):85-90.

Chen CC, Huang ST. The effects of lasers and fluoride on the acid resistance of decalcified human enamel. *Photomed Laser Surg* 2009 Jun;27(3):447-52.

Chen X, Du MQ, Fan MW, Mulder J, Huysmans MC, Frencken JE. Caries-preventive effect of sealants produced with altered glass-ionomer materials, after 2 years. *Dent Mater* 2012 May;28(5):554-60.

Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010 Nov;89(11):1187-97.

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

Correa-Afonso AM, Ciconne-Nogueira JC, Pécora JD, Palma-Dibb RG. In vitro assessment of laser efficiency for caries prevention in pits and fissures. *Microsc Res Tech* 2012b Feb;75(2):245-52.

Correa-Afonso AM, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Influence of laser irradiation on pits and fissures: an in situ study. *Photomed Laser Surg* 2013 Feb;31(2):82-9.

De Menezes Oliveira MA, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FC, Palma-Dibb RG, Borsatto MC (2010). Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microsc Res Tech* 2010 May;73(5):572-7.

Delbem ACB, Cury JA, Nakassima CK, Gouveia VG, Theodoro LH. Effect of Er:YAG laser on CaF₂ formation and its anti-cariogenic action on human enamel: an in vitro study. *J Clin Laser Med Surg* 2003 Aug;21(4):197–202.

Delbem AC, Sasaki KT, Vieira AE, Rodrigues E, Bergamaschi M, Stock SR, Cannon ML, Xiao X, De Carlo F, Delbem AC. Comparison of methods for evaluating mineral loss: hardness versus synchrotron microcomputed tomography. *Caries Res* 2009;43(5):359-65.

Dummer PM, Kingdon A, Kingdon R. Prevalence and distribution by tooth type and surface of developmental defects of dental enamel in a group of 15- to 16-year-old children in South Wales. *Commun Dent Health* 1990 Dec; 7:369–377.

Ekstrand KR, Ricketts DN, Kidd EA. Reproducibility and accuracy of three methods for assessment of demineralization depth of the occlusal surface: an in vitro examination. *Caries Res* 1997;31(3):224-31.

Featherstone JDB, Fried D. Fundamental interactions of lasers with dental hard tissues. *Med Laser Appl* 2001;16:181-94.

Firoozmand LM, Silva AP, Pelino JEP, Araújo RM. Nd:YAG laser effect on pit and fissures sealing – an in vivo study. *Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS*, v. 22, n. 55

Fowler BO, Kuroda S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. *Calcif Tissue Int* 1986; 38(4):197-208.

Gelskey SC, White JM, Gelskey DE, Kremers W. Vapor emissions resulting from Nd:YAG laser interaction with tooth structure. *Dent Mater* 1998 Nov;14(6):453-7.

Gooch BF, Griffin SO, Gray SK, Kohn WG, Rozier RG, Siegal M et al. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing dental caries through school-based sealant programs: updated recommendations and reviews of evidence. *J Am Dent Assoc* 2009 Nov;140(11):1356-65.

Hevinga MA, Opdam NJ, Frencken JE, Bronkhorst EM, Truin GJ. Microleakage and sealant penetration in contaminated carious fissures. *J Dent* 2007 Dec;35:909-914.

Huang GF, Lan WH, Guo MK, Chiang CP. Synergistic effect of Nd:YAG laser combined with fluoride varnish on inhibition of caries formation in dental pits and fissures in vitro. J Formos Med Assoc 2001 Mar;100(3):181-5.

Huth KC, Neuhaus KW, Gygax M, Bücher K, Crispin A, Paschos E, et al. Clinical performance of a new laser fluorescence device for detection of occlusal caries lesions in permanent molars. J Dent 2008 Dec;36(12):1033-40.

James P, Parnell C, Whelton H. The caries-preventive effect of chlorhexidine varnish in children and adolescents: a systematic review. Caries Res 2010;44(4):333-40.

Jennett E, Motamedi M, Rastegar S, Frederickson C, Arcoria C, Powers JM. Dye-enhanced ablation of enamel by pulsed lasers. J Dent Res 1994 Dec;73(12):1841-7.

Kamburoğlu K, Kurt H, Kolsuz E, Öztaş B, Tatar I, Celik HH. Occlusal Caries Depth Measurements Obtained by Five Different Imaging Modalities. J Digit Imaging 2011 Oct;24(5):804-13.

Kidd E. Caries control from cradle to grave. Dent Update 2010 Dec;37(10):651-2, 654-6.

Korytnicki D, Mayer MP, Daronch M, Singer Jda M, Grande RH. Effects of Nd:YAG laser on enamel microhardness and dental plaque composition: an in situ study. Photomed Laser Surg. 2006 Feb;24(1):59-63.

Kuramoto Júnior M, Matson E, Turbino ML, Marques RA. Microhardness of Nd:YAG laser irradiated enamel surfaces. Braz Dent J. 2001;12(1):31-3.

Liu Y , Hsu CY. Laser-induced compositional changes on enamel: a FT-Raman study. J Dent 2007 Mar; 35(3):226-30.

Majori M, Manzon L, Pane S, Bedini R. Effects of Nd:YAG laser on dental enamel. *J Appl Biomater Biomech* 2005 May-Aug; 3(2):128-33.

Martens LC. Laser physics and a review of laser applications in dentistry for children. *Eur Arch Paediatr Dent* 2011 Apr;12(2):61-7.

Mjör IA, Holst D, Eriksen HM. Caries and restoration prevention. *J Am Dent Assoc* 2008 May;139(5):565-70; quiz 626. Review

Myaki SI, Watanabe IS, Eduardo CP, Issao M. Nd:YAG laser effects on the occlusal surface of premolars. *Am J Dent* 1998 Jun;11:103-5.

Nammour S, Demortier G, Florio P, Delhaye Y, Pireaux JJ, Morciaux Y et al. Increase of enamel fluoride retention by low fluence argon laser in vivo. *Lasers Surg Med* 2003; 33(4):260–263.

Nunn ME, Braunstein NS, Krall Kaye EA, Dietrich T, Garcia RI, Henshaw MM. Healthy eating index is a predictor of early childhood caries. *J Dent Res* 2009 Apr;88(4):361-6.

Oho T, Morioka T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. *Caries Res* 1990;24(2):86–92.

Parker S. Surgical lasers and hard dental tissue. *Br Dent J* 2007 Apr; 202(8):445-54.

Phan ND, Fried D, Feathestone JDB. Laser-induced transformation of carbonated apatite to fluorapatite on bovine enamel. *SPIE* 1999;3593:233–239.

Pinheiro ALB. *Aplicação do laser em Odontologia*. Ed. Santos. São Paulo: Santos, 2010.

Ritter AV, Bader JD, Leo MC, Preisser JS, Shugars DA, Vollmer WM, Amaechi BT, Holland JC. Tooth-surface-specific Effects of Xylitol: Randomized Trial Results. *J Dent Res* 2013 Apr 15. [Epub ahead of print]

Shaw L. Modern thoughts on fissure sealants. Dent Update 2000 Oct;27(8):370-4.

Simonsen RJ, Neal RC. A review of the clinical application and performance of pit and fissure sealants. Aust Dent J 2011 Jun;56 Suppl 1:45-58.

Stern RH , Sognnaes RF. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. J Am Dent Assoc 1972; 85(5):1087-90.

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

Simecek JW, Diefenderfer KE, Ahlf RL, Ragain JC Jr. Dental sealant longevity in a cohort of young U.S. naval personnel. J Am Dent Assoc 2005 Feb;136(2):171-8; quiz 230.

Tagomori S, Morioka T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. Caries Res 1989; 23: 225-231.

Tagomori S, Iwase T. Ultrastructural change of enamel exposed to a normal pulsed Nd:YAG laser. Caries Res 1995; 29:513-20.

ten Cate, JM. Fluorides in caries prevention and control: empiricism or science. Caries Res 2004, 38(3):254-257.

Tepper SA, Zehnder M, Pajarola GF, Schmidlin PR. Increased fluoride uptake and acid resistance by CO2 laser-irradiation through topically applied fluoride on human enamel in vitro. J Dent 2004; 32(8):635-641.

Wang LJ, Tang R, Bonstein T, Bush P, Nancollas GH (2006). Enamel demineralization in primary and permanent teeth. J Dent Res 85: 359–363.

Zezell DM, Boari HGD, Ana PA, Eduardo CP, Powell GL. Nd:YAG Laser in caries prevention: a clinical trial. Lasers Surg Med 2009 Jan;41:31-35.

Yamamoto H., Ooya K. Potential of yttriumaluminum-garnet laser in caries prevention. *J Oral Pathol* 1974;3:7-15.

Yildiz E, Dörter C, Efes B, Koray F. A comparative study of two fissure sealants: a 2-year clinical follow-up. *Journal of Oral Rehabilitation* 2004 Oct, 31:979-984.

Zhan L, Cheng J, Chang P, Ngo M, Denbesten PK, Hoover CI, Featherstone JD. Effects of xylitol wipes on cariogenic bacteria and caries in young children. *J Dent Res* 2012 Jul;91(7 Suppl):85S-90S.

Zimmer S, Robke FJ, Roulet JF. Caries prevention with fluoride varnish in a socially deprived community. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999 Apr;27:103–8.

9-ANEXOS

Anexo 1. Parecer favorável para a realização desta pesquisa referente ao projeto de doutorado, obtido junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
Comitê de Ética em Pesquisa

OF.CEP/251/FORP

Ribeirão Preto, 25 de junho de 2009.

Senhora Professora,

Ref.: Processo nº 2009.1.489.58.1
CAAE nº 0034.0.138.000-09

A pedido da Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva, Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa, desta Faculdade, informamos que o referido Comitê em sua 100ª Sessão, realizada em 18 de junho de 2009, **aprovou o Projeto de Pesquisa:** "Avaliação clínica dos efeitos do laser Nd: YAG na prevenção de lesões de cárie oclusal na dentição decídua e permanente".

Na oportunidade, lembramos da necessidade de entregar na Secretaria do Comitê, com o formulário preenchido pelo pesquisador responsável, os **Relatórios Parciais** nos dias **30 de junho de 2010 e 30 de junho de 2011** e o **Relatório Final** no dia **30 de junho de 2012**.

Atenciosamente,

Glaucê Della Rosa

Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilma. Sra.

Profa. Dra. REGINA GUENKA PALMA DIBB

Professora Associada do Departamento de Odontologia Restauradora – FORP/USP

Anexo 2. Certificado de registro ClinicalTrials.gov

Protocol Registration Receipt

11/12/2012

Neodymium:Yttrium Aluminum Garnet Laser in Caries Prevention of Primary Teeth:
One-year Follow-up

This study is ongoing, but not recruiting participants.

Sponsor:	University of Sao Paulo
Collaborators:	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
Information provided by (Responsible Party):	Regina Guenka Palma Dibb, University of Sao Paulo
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT01727804

► Purpose

The aim of this controlled clinical study was to evaluate the Nd:YAG laser, with or without fluoride, in prevention of occlusal caries in the primary dentition.

Condition	Intervention	Phase
Caries in Occlusal Surface of Primary and Permanent Dentition	Laser in caries prevention	N/A

Study Type: Interventional

Study Design: Prevention, Single Group Assignment, Double Blind (Subject, Investigator), N/A, Efficacy Study

Official Title: Clinical Effect of Neodymium:Yttrium Aluminum Garnet Laser in Occlusal Caries Prevention of Primary Teeth: One Year Follow up.

Further study details as provided by Regina Guenka Palma Dibb, University of Sao Paulo:

Primary Outcome Measure:

- Clinical evaluation of the presence of dental caries on tooth occlusal surface [Time Frame: up to 1 year]
[Designated as safety issue: No]

Anexo 3. Diário alimentar utilizado para avaliação e identificação de dieta cariogênica.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Diário Alimentar

	Segunda-Feira <u>26/4/10</u>	Terça-Feira <u>27/4/10</u>	Quarta-Feira <u>28/4/10</u>	Quinta-Feira <u>29/4/10</u>	Sexta-Feira <u>30/4/10</u>
8:00					
9:00 9:30	mini pizza	mini pizza	mini pizza	mini pizza	mini pizza
10:00	DA MONT		Bombom		
11:00					
12:00	ARROZ, Feijão ovo, tomate, alface	ARROZ, Feijão Tomate, carne	ARROZ, Feijão Omelete	ARROZ, Feijão Carne	ARROZ Feijão SALADA
13:00	DA MONT			Bombom	
14:00					
15:00					
16:00	1 Filhinho e 1 copo leite	Bombom, Bolo copo leite	3 BANANAS	2 BANANAS	2 DA MONT
17:00 <u>21:30</u>	1 copo de Quindim 1 Bala - 1 copo guaraná				
18:00					1 DA MONT
19:00	DA MONT	Bombom	PAU/BANANAS	Bombom	
20:00		ARROZ, Feijão tomate,		ARROZ Feijão verdinho/carne	ARROZ, Feijão Omelete
<u>21:30</u>	ARROZ e OVO	<u>20:30</u> 1 magra farinha	500ml SUCO ARROZ - Legume CARNE		

Anexo 4. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participação na pesquisa.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (Capítulo IV, itens 1 a 3 da Resolução 196/96 – Conselho Nacional de Saúde)

Eu, Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dibb, pesquisadora responsável pelo projeto “**Avaliação da aceitabilidade e efetividade dos lasers Diodo e Nd:YAG na prevenção de lesões de cárie oclusal na dentição decídua e permanente**” convido seu filho(a)..... a participar do referido projeto que será realizado na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

1) O objetivo do estudo será:

Avaliar clínica e radiograficamente a efetividade do tratamento de prevenção do desenvolvimento da lesão de cárie oclusal com a aplicação de um selante resinoso comparado a irradiação com o laser de Diodo e Nd:YAG, durante 12 meses, associado ou não a aplicação tópica de flúor.

2) Justificativa do estudo:

Atualmente, esforços têm sido direcionados para a redução do risco à cárie dental através da motivação e adoção de medidas preventivas, bem como da conscientização de nosso paciente sobre a relevância da associação profissional-paciente para o sucesso no controle da doença cárie. Sabe-se a utilização tópica de flúor proporciona uma superfície de esmalte com resistência aumentada à desmineralização. Entretanto, seus maiores benefícios são percebidos nas superfícies lisas de esmalte. Neste contexto a aplicação de selantes tem sido considerada um importante procedimento na tentativa de impedir a instalação e/ou progressão de lesões de cárie nas superfícies oclusais. O selante age como barreira física ou mecânica que impede o contato do esmalte com o meio bucal, e assim evita que haja instalação de bactérias nessas superfícies. Contudo a dificuldade de se conseguir uma adequada retenção do selante ao esmalte dental, que pode ser influenciada pela contaminação do campo operatório, especialmente em crianças muito jovens, pacientes especiais e dentes recém-irrompidos, tem direcionado o uso de novas técnicas de prevenção das lesões de cárie e, entre elas, a utilização da irradiação dos tecidos dentais

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

com a luz laser tem se destacado. Este trabalho procura contribuir para o conhecimento desta área avaliando diferentes tratamentos na prevenção de lesões cariosas.

3) Procedimentos:

Para o exame clínico o paciente receberá uma profilaxia com pasta e escovas específicas para os dentes em toda a cavidade bucal. Posteriormente será realizada a tomada radiográfica interproximal dos molares decíduos e permanentes. Serão realizados diferentes tipos de tratamento em cada dente do paciente: Primeiro será aplicado um gel de flúor na superfície do dente com o auxílio de um microbrush e mantido por 4 minutos, após esse tempo, o excesso do gel será removido com algodão. O paciente deve permanecer 30 minutos após a aplicação sem comer ou beber nada. Em outro dente será aplicado um verniz fluoretado na superfície do esmalte com pincel descartável. O paciente deve permanecer 2 horas após a aplicação sem comer ou beber nada. Para a realização do selante será realizada a anestesia e adaptação de um lenço de borracha e grampo de metal para o isolamento absoluto do dente e então será aplicado o selante. Uma vez aplicado o selante, o isolamento será removido e realizada a checagem da mordida e aplicação de flúor. Para os tratamentos com laser, o paciente será devidamente protegido com óculos específicos, e inicialmente será aplicado um gel de flúor na superfície do dente com o auxílio de um microbrush e mantido por 4 minutos, após esse tempo, o excesso do gel será removido com algodão e será realizada a aplicação do laser. Em outro dente será aplicado um verniz fluoretado na superfície do esmalte com pincel descartável e em seguida a aplicação do laser. É importante o responsável entender que em um único dente não será realizado nenhum tipo de tratamento, contudo o uso de dentifrício fluoretado deverá continuar sendo utilizada pelo paciente.

Após a realização do tratamento o responsável pelo paciente receberá um cartão de retorno, no qual constarão as datas das rechamadas para o comparecimento do paciente.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Este cartão também deverá conter um telefone para contato, sendo que da mesma forma o paciente deverá fornecer algum telefone para contato.

Os responsáveis pelos pacientes receberão quatro potes plásticos identificados com tampa e quatro frascos de 10ml de soro fisiológico nos quais devem armazenar os dentes esfoliados e mantê-los em geladeira até a entrega ao pesquisador. Para a armazenagem dos dentes no pote correto será realizada a identificação de cada dente na forma de uma figura representativa que será entregue aos pais e explicada pelo avaliador na segunda rechamada (após 6 meses).

4) Possibilidade de desconfortos e risco ao paciente:

Como o presente estudo envolve procedimentos realizados corriqueiramente nos consultórios odontológicos, dificilmente os tratamentos causaram algum desconforto ou risco ao paciente, contudo qualquer dúvida o responsável pode entrar em contato com os pesquisadores envolvidos. Neste estudo os pesquisadores manterão a confiabilidade do paciente.

5) Benefícios ao paciente:

O primeiro benefício que o participante do presente estudo desfrutará será a possibilidade de um acompanhamento odontológico periódico, o qual envolve a realização de limpeza das superfícies dentais a cada rechamada, portanto a saúde bucal do paciente será acompanhada durante todo o período de avaliação clínica do estudo. O participante do estudo também se beneficiará no sentido de que obterá diferentes tratamentos reconhecidamente eficazes na prevenção de lesões cariosas, assim como novas possibilidades de tratamento.

6) Possibilidade de desistência:

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

O responsável pelo paciente deve tomar conhecimento da possibilidade de desistência a qualquer momento da pesquisa, sem que isto acarrete em qualquer penalidade ou represália de qualquer natureza.

Declaro que fui devidamente esclarecido(a) (de forma oral e escrita) que:

- Estou ciente de que esta pesquisa é científica e poderá ser publicada em jornais, revistas e/ou congressos científicos no país e no exterior, mantendo-se o sigilo e respeitando-se o código de Defesa do Menor e do Adolescente.
- Os procedimentos clínicos não causarão nenhum prejuízo à integridade física ou moral, desconforto ou risco.
- Tenho plena liberdade de recusar a participação do meu filho(a) nesta pesquisa, assim como tenho liberdade de retirá-lo a qualquer momento, sem nenhuma penalização ou prejuízo.
- Não é previsto o ressarcimento de despesas ou indenizações, já que os procedimentos a serem realizados não são agressivos à saúde física ou moral.
- Os pesquisadores se comprometem a prestar assistência, caso ocorra algum problema relacionado à execução da parte clínica (atendimento do paciente) do projeto.

Declaro que permitirei a doação dos dentes que esfoliarem aos responsáveis pelo estudo para o desenvolvimento do restante da pesquisa.

Estou ciente de que esta pesquisa tem como pesquisador responsável a **Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dobb** (016-3602-4016). Assino este documento de livre e espontânea vontade, estando ciente do seu conteúdo.

Assinatura do Responsável

RG: _____

CPF: _____

Profa. Dra. Regina Guenka Palma Dobb
CPF: 145.831.718-89

Anexo 5. Apresentação dos resultados parciais obtidos na 1ª Fase dos testes de alteração da estrutura do esmalte no IADR - 2011.

IADR
International Association
for Dental Research

VERIFICATION OF ATTENDANCE

The International Association for Dental Research verifies that:

Walter Raucci-Neto

attended the IADR/AADR/CADR General Session and Exhibition
at the San Diego Convention Center in San Diego, Calif., USA,
March 16-19, 2011 and presented the following research:

"Clinical Evaluation of Nd:YAG Effect in Caries Prevention: Preliminary Study"

ADA CERP® | Continuing Education
Recognition Program The International Association for Dental Research
is an ADA CERP Recognized Provider.

ADA CERP is a service of the American Dental Association to assist dental professionals in identifying quality providers of dental education. ADA CERP does not approve or endorse individual courses or instructors, nor does it imply acceptance of credit hours by boards of dentistry.

Concerns or complaints about a CE provider may be directed to the provider or the ADA CERP at www.ada.org/goto/cerp.

Christopher H. Fox, D.M.D., D.M.Sc.
Executive Director

Anexo 6. Apresentação dos resultados parciais obtidos na 1ª Fase dos testes de alteração da estrutura do esmalte no AADR - 2012.

VERIFICATION OF ATTENDANCE

The International Association for Dental Research verifies that:

Walter Raucci-Neto

attended the AADR/CADR Annual Meeting and Exhibition at the Tampa Convention Center in Tampa, Florida, USA, March 21-24, 2012 and presented the following research:

Nd:YAG laser in caries prevention: one year follow up

ADA CERP® | Continuing Education Recognition Program | The International Association for Dental Research is an ADA CERP Recognized Provider.

ADA CERP is a service of the American Dental Association to assist dental professionals in identifying quality providers of dental education. ADA CERP does not approve or endorse individual courses or instructors, nor does it imply acceptance of credit hours by boards of dentistry.

Concerns or complaints about a CE provider may be directed to the provider or the ADA CERP at www.ada.org/cerp.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Christopher H. Fox".

Christopher H. Fox, D.M.D., D.M.Sc.
Executive Director

Anexo 7. Apresentação dos resultados obtidos na 2ª Fase dos testes de alteração da estrutura do esmalte no IADR - 2013.

VERIFICATION OF ATTENDANCE

The International Association for Dental Research verifies that:

Walter Raucci-Neto

attended the IADR/AADR/CADR General Session & Exhibition in Seattle, Washington, USA
March 20-23, 2013 and presented the following research:

Caries Prevention with Nd:YAG Laser: *ex vivo* Analysis

ADA CERP® | Continuing Education Recognition Program | The International Association for Dental Research is an ADA CERP Recognized Provider.

ADA CERP is a service of the American Dental Association to assist dental professionals in identifying quality providers of dental education. ADA CERP does not approve or endorse individual courses or instructors, nor does it imply acceptance of credit hours by boards of dentistry.

Concerns or complaints about a CE provider may be directed to the provider or the ADA CERP at www.ada.org/cerp.

Christopher H. Fox, D.M.D., D.M.Sc.
Executive Director

Anexo 8. Submissão de artigo relacionado à tese de doutorado para o periódico Microscopy and Microanalysis (Qualis A2 – fator de impacto: 3.007).

Imprimir

06/05/13 10:45

Assunto: Microscopy and Microanalysis – Manuscript ID MAM-13-060

De: Support@ScholarOne.com (Support@ScholarOne.com)

Para: rauccineto@yahoo.com.br;

Cc: rauccineto@yahoo.com.br; cesarlepri@yahoo.com.br; jujfaraoni@yahoo.com.br; larissa_spinola@yahoo.com.br; bachmann@ffclrp.usp.br; rgpalma@forp.usp.br;

Data: Terça-feira, 5 de Março de 2013 14:04

05-Mar-2013

Dear Dr. Raucci Neto:

This email is a confirmation of the receipt of your manuscript entitled "Chemical and morphological changes of primary teeth irradiated with an Nd:YAG laser: A long-term analysis.". Your manuscript has been assigned the following ID number: MAM-13-060.

An Editor will be in touch shortly. Thank you for submitting your manuscript to Microscopy and Microanalysis.

Sincerely,
Microscopy and Microanalysis

Anexo 9. Submissão de artigo relacionado à tese de doutorado para o periódico Lasers in Medical Science (Qualis A2 – fator de impacto: 2.004).

Imprimir

06/05/13 10:48

Assunto: Acknowledgement of Receipt

De: Lasers in Medical Science (erica.fajardo@springer.com)

Para: rauccineto@yahoo.com.br;

Data: Quarta-feira, 10 de Abril de 2013 0:29

Dear Dr. Walter Raucci Neto:

Thank you for submitting your manuscript, "Nd:YAG laser in occlusal caries prevention of primary teeth: a randomized clinical trial.", to Lasers in Medical Science.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following web site:

<http://lims.edmgr.com/>

Your username is:

Your password is:

With kind regards,

The Editorial Office
Lasers in Medical Science