RODRIGO ALEXANDRE VALÉRIO

***INFLUÊNCIA DO LASER DE CO₂ E DE COMPOSTOS
FLUORETADOS NO CONTROLE DA LESÃO DE CÁRIE EM
ESMALTE DE DENTE DECÍDUO DESMINERALIZADO -
ANÁLISE IN VITRO DA MICRODUREZA SUBSUPERFICIAL***

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Mestre em Ciências.
Programa: Odontopediatria
Área de Concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Profa. Dra. SILMARA APARECIDA MILORI CORONA

RIBEIRÃO PRETO

2011

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.

FICHA CATALOGRÁFICA

Valério, Rodrigo Alexandre

Influência do laser de CO₂ e de compostos fluoretados no controle da lesão de cárie em esmalte de dente decíduo desmineralizado – análise *in vitro* da microdureza subsuperficial. Ribeirão Preto, 2011.

44p.: il, 30 cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Corona, Silmara Aparecida Milori

1. Lasers de CO₂. 2. Dente decíduo. 3. Cárie dentária.
4. Fluoretos tópicos. 5. Desmineralização. 6. Dureza.

FOLHA DE APROVAÇÃO

VALÉRIO, RA. INFLUÊNCIA DO LASER DE CO₂ E DE COMPOSTOS FLUORETADOS NO CONTROLE DA LESÃO DE CÁRIE EM ESMALTE DE DENTE DECÍDUO DESMINERALIZADO - ANÁLISE *IN VITRO* DA MICRODUREZA SUBSUPERFICIAL.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Mestre em Ciências. Programa: Odontopediatria. Área de concentração: Odontopediatria.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

RODRIGO ALEXANDRE VALÉRIO

Nascimento	04 de agosto de 1978 – Taquaritinga/SP
Filiação	Walter João Valério Vera Lucia Aparecida Gibertoni Valério
1996-1999	Curso de Graduação Universidade de Marília - UNIMAR
1998-1999	Aperfeiçoamento em Prático de Terceiros Molares Retidos Centro Bauruense de Estudos Odontológicos Bauru/SP
2000-2001	Especialização em Dentística Restauradora Associação Odontológica de Ribeirão Preto - AORP
2005-2006	Curso de Atualização de Implante – Módulo Teórico e Prático Ortotrauma Araraquara/SP
2005-2007	Especialização em Acupuntura Sistêmica Instituto Paulista de Estudos Sistêmicos Ribeirão Preto/SP
2009-2011	Curso de Pós-graduação (Mestrado) em Odontologia Área de Concentração: Odontopediatria Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP

DEDICO ESTE TRABALHO,

Aos meus queridos pais, **WALTER JOÃO VALÉRIO** (*in memorian*) e **VERA LUCIA APARECIDA GIBERTONI VALÉRIO**, pelo amor e apoio incondicionais, sonhos compartilhados, suporte emocional nos momentos difíceis e pelo incentivo constante às minhas escolhas, além de estarem presentes em todos os momentos importantes da minha vida. Serei eternamente grato a vocês pela amável e incansável dedicação.

A meu irmão **WALTER VALÉRIO NETO**, minha cunhada **VANESSA CRISTINA MIRANDA VALÉRIO**, meu sobrinho **JOÃO PEDRO MIRANDA VALÉRIO**, minha tia **CESIRA LODILA VALÉRIO**, meu primo **FREDERICO GUSTAVO VALÉRIO**, meus avós **WALTER VALÉRIO** (*in memorian*), **IRMA MICALI VALÉRIO**, **HÉRCULES GIBERTONI** (*in memorian*), **MARIA ROSA BERNADELI GIBERTONI** (*in memorian*), por me ensinarem a viver de forma simples e humilde como eram eles, e por transmitirem-me as mais valiosas lições de caráter, amor ao próximo, fé e caridade.

À minha orientadora Professora Doutora **SILMARA APARECIDA MILORI CORONA** por ser um exemplo de dignidade e honestidade num mundo que perdeu o seu valor. Admiro-te como pessoa, por sua alegria, inteligência e por ser uma mãe exemplar.

Plante seu jardim e decore sua alma, ao invés de esperar que alguém lhe traga flores. E você aprende que realmente pode suportar, que realmente é forte, e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida! Nossas dídivas são traidoras e nos fazem perder o bem que poderíamos conquistar, se não fosse o medo de tentar.

WILLIAM SHAKESPEARE

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A DEUS:

Não percas a tua fé entre as sombras do mundo. Ainda que os teus pés estejam sangrando, segue para frente, erguendo-se por luz celeste, acima de ti mesmo. Crê e trabalha. Esforça-te no bem e espera com paciência. Tudo passa e tudo se renova na terra, mas o que vem do céu permanecerá. De todos os infelizes os mais desditosos são os que perderam a confiança em Deus e em si mesmo, porque o maior infortúnio é sofrer a privação da fé e prosseguir vivendo. Eleva, pois, o teu olhar e caminha. Luta e serve. Aprende e adianta-te. Brilha a alvorada além da noite. Hoje, é possível que a tempestade te amarfane o coração e te atormente o ideal, aguilhoando-te com a aflição ou ameaçando-te com a morte. Não te esqueças, porém, de que amanhã será outro dia.

FRANCISO CÂNDIDO XAVIER

Aos meus pais **WALTER JOÃO VALÉRIO** e **VERA LUCIA APARECIDA GIBERTONI VALÉRIO**:

Pai é uma pena que você não esteja aqui nesse momento pra vivenciar mais uma vitória na minha carreira. Você nos deixou tão cedo! A cada dia que passa sentimos mais sua falta, a saudade aumenta, o coração fica apertado. Mas onde quer que esteja saiba que eu te amo e tenho certeza que esta olhando por todos nós. Muito obrigado por me ensinar a ser uma pessoa humilde, educada e a dar valor nas pequenas coisas da vida. Obrigado por acreditar em mim e no meu potencial, quando outros não o fizeram.

Mãe, a vida já nos pregou tantas peças, enfrentamos tantas situações difíceis, mas graças a Deus conseguimos superar todas. Agradeço-te pela pessoa que você é, sempre amorosa, preocupada, prestativa e infinitamente simples, humilde e devota a Deus. Graças as suas orações e a imensurável bondade que tem no coração, você foi mais que uma mãe, foi também o pai que perdi tão cedo. Obrigado por tudo.

Ao meu irmão **WALTER VALÉRIO NETO**, pela sua extrema bondade e pureza no coração. Você é uma pessoa especial na minha vida. Agradeço-te por tudo do fundo do meu coração.

À minha orientadora Professora Doutora **SILMARA APARECIDA MILORI CORONA**:

Agradeço a Deus todos os dias por ter colocado pessoas tão boas no meu caminho. Você certamente é uma delas. Tu és uma pessoa especial; alegre, inteligente, paciente e prestativa. Agradeço-te por me ter como filho e por fazer parte da minha vida.

Professora Doutora **MARIA CRISTINA BORSATTO**:

Nenhuma palavra pode expressar a gratidão que sinto por você. Obrigado pela confiança depositada, bondade e honestidade. Estou aqui hoje graças a você, e agradeço-lhe infinitamente por isso. Que sua alegria continue contagiando a todos que estão ao seu redor.

Ao Professor Doutor **JOÃO NEUDENIR ARIOLI FILHO**, pela ajuda prestada desde o início da minha carreira, obrigado pelos ensinamentos, conselhos e por estar sempre ao meu lado nos momentos que precisei.

Ao Professor Doutor **FÁBIO LOURENÇO ROMANO**, meu muito obrigado pelas orientações e por ensinar-me um pouco de ortodontia. Você é um dos grandes amigos que tenho na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto. Conte comigo sempre.

Ao Professor Doutor **FRANCISCO WANDERLEY GARCIA DE PAULA E SILVA**, obrigado pela paciência e por todas as lições. Você é extremamente inteligente. Agradeço por ter desfrutado de todos seus conhecimentos.

Ao Professor Doutor **PAULO NELSON FILHO**, obrigado pela confiança, espero que tenha correspondido as suas expectativas. Admiro-te como pessoa e pesquisador. Guardarei seus ensinamentos por toda a vida.

À Professora Doutora **MÔNICA CAMPOS SERRA** que sempre esteve disponível a ajudar. Sua inteligência e competência são fontes de inspiração para mim! Obrigado!

À Professora Doutora **RAQUEL ASSED BEZERRA DA SILVA**, pela amizade e atenção. Agradeço pelos ensinamentos compartilhados e por sua disposição em ajudar. Obrigado.

À Professora Doutora **ALEXANDRA MUSSOLINO DE QUEIROZ**, pelos ensinamentos transmitidos e a confiança depositada na clínica de odontopediatria. Obrigado pelas orientações e elogios.

À Professora Doutora **KRANYA VICTÓRIA DÍAZ SERRANO**, pela sua alegria, gentileza, compreensão e estímulo. Obrigado por compartilhar comigo seu valioso conhecimento profissional e pela grande amizade que encontrei em você.

À Professora Doutora **ALDEVINA CAMPOS DE FREITAS**, pela dedicação, paciência e amor à profissão.

À minha amiga **MARTA MARIA MARTINS GIAMATEI CONTENTE**, que teve grande papel nessa conquista, estando sempre disposta a me auxiliar quando necessário. Você é extremamente bondosa, correta e inteligente, com um futuro brilhante pela frente. Espero retribuir essa ajuda, obrigado.

Às amigas **CAROLINA PAES TORRES** e **JACIARA MIRANDA GOMES DA SILVA**, obrigado pela amizade, companheirismo e ajuda imprescindível em todas as fases deste trabalho. A admiração e o carinho ficarão guardados para sempre. Que Deus ilumine sempre vossos caminhos.

Ao amigo **RODRIGO GALO** por sua alegria e ajuda intensa. Obrigado pela disposição e companheirismo durante todo esse tempo.

Ao amigo **JERONIMO MANÇO DE OLIVEIRA NETO**, grande irmão, obrigado por fazer parte dessa conquista. Sempre pronto a colaborar em todos os momentos. Agradeço a Deus por encontrar mais um amigo. Aguardo a oportunidade para retribuir todo esse apoio.

À **CRISTIANE TOMAZ ROCHA**, obrigado por estar ao meu lado durante todo o período laboratorial desse trabalho, ajudando-me, esclarecendo minhas dúvidas, e colaborando para que tudo ficasse perfeito. Agradeço muito por isso. Conte sempre comigo.

Aos meus amigos de infância: **GUSTAVO GIBERTONI, GUSTAVO ROBERTO BASILIO, RENATO DONATO HAGGY e RICARDO LUÍS PINTO DA CUNHA** por todos os momentos agradáveis vivenciados. Que nossa amizade dure para sempre. Todos vocês contribuíram muito para que eu me tornasse uma pessoa melhor. Obrigado por sempre estarem ao meu lado tanto nos momentos difíceis enfrentados, quanto nas alegrias compartilhadas.

Aos meus amigos: **ROGÉRIO TADEU POSCA, BRUNO BENATTI, DANIEL RICARDO BASILIO, PRILYANA DE BARROS BASSO BASILIO, LUCIANO EDUARDO ROSA, PRISCILA MISCOSSI, LILIAN ABUD ANSELMO**, pela amizade, compreensão e toda ajuda prestada.

Aos meus amigos da graduação: **BRUNO, CAIO, DANILO, KLEBER, LÉLIS, LUCAS, LUÍS HENRIQUE, MAURÍCIO e VICTOR**, por todos os bons momentos compartilhados.

À amiga **FÁTIMA RIZÓLI**. Você é mais uma pessoa especial que Deus colocou no meu caminho. Sempre alegre, verdadeira e prestativa. Obrigado pela ajuda e conselhos.

Aos amigos **MARCELO LOURENÇO DA SILVA e JOSIE RESENDE TORRES DA SILVA**, pela amizade e confiança depositada. Obrigado por fazerem parte da minha vida e pelos conhecimentos transmitidos durante o curso de acupuntura.

À amiga **MICHEL CRISTINA LEITE ROVANHOLO**, por toda a ajuda, paciência e alegria partilhadas durante esses dois anos. Você é uma pessoa especial que vou guardar no meu coração para sempre. Obrigado.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa do atual Diretor Professor Doutor **OSVALDO LUIZ BEZZON** e Vice-Diretor Professor Doutor **VALDEMAR MALLET DA ROCHA BARROS**.

À Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da atual Presidente Professora Doutora **LÉA ASSED BEZERRA DA SILVA**, também coordenadora do curso de Pós-Graduação em Odontopediatria. Agradeço pelo determinismo em conseguir a excelência e o reconhecimento deste curso.

Às funcionárias da seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **ISABEL CRISTINA GALINO SOLA** e **REGIANE CRISTINA MOI SACILOTTO**, obrigado pela atenção e paciência em todos os momentos.

Aos docentes do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da FORP-USP: Professor Doutor **ADILSON THOMAZINHO**, Professora Doutora **ALDEVINA CAMPOS DE FREITAS**, Professora Doutora **ALEXANDRA MUSSOLINO DE QUEIROZ**, Professora Doutora **ANDIARA DE ROSSI**, Professora Doutora **JANETE CINIRA BREGAGNOLO**, Professor Doutor **FÁBIO LOURENÇO ROMANO**, Professor Doutor **JOSÉ ARNALDO VIANA CIONE**, Professor Doutor **JOSÉ TARCÍSIO DE LIMA FERREIRA**, Professora Doutora **KRANYA VICTORIA DÍAZ SERRANO**, Professora Doutora **LÉA ASSED BEZERRA DA SILVA**, Professora Doutora **MARIA BERNADETE SASSO STUANI**, Professora Doutora **MARIA DA CONCEIÇÃO PEREIRA SARAIVA**, Professora Doutora **MARLÍVIA GONÇALVES DE CARVALHO WATANABE**, Professora Doutora **MÍRIAN AIKO NAKANE MATSUMOTO**, Professor Doutor **PAULO NELSON FILHO**, Professora Doutora **RAQUEL ASSED BEZERRA DA SILVA**, Professor Doutor **RICARDO HENRIQUE ALVES DA SILVA**, Professora Doutora **SADA ASSED** e Professor Doutor **WILSON MESTRINER JÚNIOR**.

Vocês foram um incentivo em minha vida acadêmica. Obrigado pelas oportunidades a mim concedidas e pelos valiosos conhecimentos transmitidos durante nosso convívio.

Aos alunos do mestrado do Curso de Pós-graduação em Odontopediatria: **CAMILA SCATENA**, **CÍNTIA GUIMARÃES DE ALMEIDA**, **DANIELLE TORRES DE AZEVEDO**, **ELAINE MACHADO PINGUEIRO**, **FERNANDA REGINA RIBEIRO SANTOS**, **ILIANA FERRAZ SABATINI**, **KÉSSIA SUÊNIA FIDELIS DE MESQUITA**, **LÍGIA MARIA NAPOLITANO GONÇALVES**, **LUCIANE ALMEIDA DO CARMO**, **MARCELA MARTIN DEL CAMPO FIERRO**, **MARÍLIA PACÍFICO LUCISANO**, **PAULA DARIANA FERNANDES FERREIRA** e **TALITHA DE SIQUEIRA MELLARA** por me ajudarem sempre, e por proporcionarem uma agradável convivência. Saudades!

Aos alunos do doutorado do Curso de Pós-graduação em Odontopediatria: **CRISTINA BUENO BRANDÃO, GISELLE DE ANGELO SOUZA LEITE, KLEBER CORTES BONIFÁCIO, LARISSA MOREIRA SPINOLA DE CASTRO, LEONARDO BISCARO PEREIRA, MARCELA CRISTINA DAMIÃO ANDRUCIOLI, MARINA FERNANDES DE SENA, MARTA ESTELA SARAVIA, MARTA MARIA MARTINS GIAMATEI CONTENTE, MAYA FERNANDA MANFRIN ARNEZ, MILENA SILVA CAMPOS, e WALTER RAUCCI NETO** pela agradável convivência.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social e da Clínica de Pacientes Especiais da FORP-USP:

FÁTIMA APARECIDA JACINTO DANIEL, MICHELI CRISTINA LEITE RAVANHOLO, FILOMENA LELLI PLACCITI, BENEDITA VIANA RODRIGUES, CARMO EURÍPEDES TERRA BARRETO, JOSÉ APARECIDO NEVES DO NASCIMENTO, MARCO ANTÔNIO DOS SANTOS, NADIR DAS DORES GARDIN FELÍCIO, RENATA FERNANDES RODRIGUES, VERA RIBEIRO DO NASCIMENTO, MARIÂNGELA DE OLIVEIRA E RENATA CRISTINA ROSA.

Obrigada pelo diuturno apoio. Vocês também foram meus mestres durante esta etapa.

Aos funcionários do *“Centro de Formação de Recursos Humanos Especializados no Atendimento Odontológico de Pacientes Especiais”*, **BENEDITA VIANA RODRIGUES, FÁTIMA RIZÓLI, NADIR FELÍCIO e RENATA APARECIDA FERNANDES RODRIGUES**, pelo carinho e atenção constante.

Aos secretários da Graduação do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social **FILOMENA LELI PLACITI e MATHEUS MORELLI ZANELA** pela ajuda essencial.

À **PATRÍCIA MARCHI**, técnica do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pela colaboração e atenção durante meu curso de Mestrado e pela disposição na execução da parte experimental deste trabalho.

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa concedida.

A TODOS QUE, DE ALGUMA FORMA, CONTRIBUÍRAM PARA A CONCRETIZAÇÃO DESTE SONHO, MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS.

RESUMO

VALÉRIO, RA. **Influência do laser de CO₂ e de compostos fluoretados no controle da lesão de cárie em esmalte de dente decíduo desmineralizado – análise *in vitro* da microdureza subsuperficial.** [Mestrado]. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2011.

A irradiação com laser de CO₂ e o emprego de compostos fluoretados podem contribuir para que o esmalte do dente decíduo se torne mais resistente a desafios ácidos. Assim, o presente estudo tem por objetivo avaliar *in vitro* o efeito do laser de CO₂ e de compostos fluoretados no controle da progressão de lesões de cárie em esmalte de dentes decíduos por meio da análise de microdureza subsuperficial. Foram utilizados 40 caninos humanos decíduos, dos quais foram obtidos fragmentos de 3x3x2 mm. Estes foram submetidos a desafio cariogênico inicial que consistiu na imersão em solução desmineralizadora por 3 horas e remineralizadora por 21 horas, durante 5 dias. Os fragmentos foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (n=10) de acordo com o tratamento superficial: CO₂ - laser de CO₂ (10,6 µm), VF - verniz fluoretado a 5%, FFA - flúor fosfato acidulado a 1,23% e ST - sem tratamento (controle). O laser de CO₂ foi aplicado no modo ultra pulso, com potência de 0,5 W, densidade de energia de 0,04 J/cm². Nos grupos que receberam tratamento com os fluoretos foi realizada uma aplicação de 0,1g durante um minuto. Após o tratamento superficial, foi realizado desafio cariogênico durante 5 dias, seguindo o protocolo anteriormente descrito. Foram realizadas 3 leituras de microdureza subsuperficial Knoop (KHN) a 30 µm da superfície. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Duncan com significância de 5%. Verificou-se que a microdureza subsuperficial do esmalte do dente decíduo obtida após irradiação com laser de CO₂ foi semelhante à obtida após a aplicação do FFA, mas estatisticamente diferente dos grupos ST e VF (p≤0,05), que obtiveram as menores médias. Conclui-se que o laser de CO₂ pode contribuir para o controle da progressão de lesões de cárie em esmalte de dentes decíduos.

Palavras-chave: Lasers de CO₂, Dente decíduo, Cárie dentária, Fluoretos tópicos, Desmineralização e Dureza.

ABSTRACT

VALÉRIO, RA. **Influence of CO₂ laser and fluoride compounds in the control of caries lesion on demineralized primary tooth enamel – an *in vitro* subsurface microhardness analysis.** [Mestrado]. Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2011.

The CO₂ laser irradiation and the employment of fluoride compounds may contribute to the deciduous tooth enamel becoming more resistant to acid challenges. Thus, this study aims to evaluate *in vitro* the effect of CO₂ laser irradiation and fluoride compounds in the control of the progression of carious lesions on enamel of deciduous teeth by subsurface microhardness analysis. A total of 40 deciduous canines were used, of which fragments were obtained 3x3x2 mm. These fragments were submitted to an initial cariogenic challenge that consisted of immersion on demineralizing solution for 3 hours and remineralizing solution for 21 hours, for 5 days. The fragments were randomly divided into 4 groups (n = 10) according to the superficial treatment: CO₂ - CO₂ laser (10.6 µm), VF - fluoride varnish 5%, FFA - acidulated phosphate fluoride 1.23% and ST - without treatment (control). The CO₂ laser was applied in ultra pulse mode with power of 0.5 W and power density of 0.04 J/cm². In the groups treated with fluoride application was performed from 0.1 g for one minute. After superficial treatment, cariogenic challenge was performed during 5 days, following the protocol described previously. Three Knoop subsurface microhardness (KHN) readings were performed at 30 µm from the surface. The data obtained were subjected to analysis of variance (ANOVA) and Duncan test with significance of 5%. It was found that the subsurface microhardness on the enamel of deciduous teeth obtained after irradiation with CO₂ laser was similar to that obtained after the application of FFA but statistically different from the VF and ST groups ($p \leq 0.05$) that received the lowest average. It was concluded that the CO₂ laser can contribute to the control of the progression of carious lesions on enamel of deciduous teeth.

Keywords: CO₂ lasers, deciduous teeth, caries, topical fluoride, demineralization and hardness.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
PROPOSIÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	20
Delineamento experimental	21
Aspectos éticos	21
Seleção e preparo das amostras	21
Desafio cariogênico inicial	22
Tratamento superficial.....	22
Desafio cariogênico pós-tratamento superficial.....	23
Teste de Microdureza.....	24
Análise estatística	24
RESULTADOS	26
DISCUSSÃO	29
CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	36
ANEXO.....	43

INTRODUÇÃO

Frente aos avanços científicos e tecnológicos nas áreas da Saúde, o modelo odontológico cirúrgico-restaurador vem sendo substituído por conceitos e procedimentos focados na prevenção das doenças e promoção de saúde bucal. Medidas educativas e preventivas colaboram na redução dos índices da doença cárie, juntamente com a evolução dos materiais odontológicos e a implementação de técnicas inovadoras, como a irradiação laser que pode contribuir na prevenção da progressão e instalação da doença cárie, principalmente em crianças e adolescentes.

De acordo com a teoria atômica proposta por Einstein em 1917 e nos estudos pioneiros de Gordon *et al.* em 1955 e Schawlow e Townes em 1958, o pesquisador norte-americano Theodore Harold Maiman em 1960 idealizou e desenvolveu a primeira fonte de emissão estimulada de luz visível por meio da excitação de um cristal de rubi no interior de uma câmara ou ressonador. Para definir esse sistema de luz foi proposto o termo LASER, acrônimo de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation – amplificação da luz por emissão estimulada de radiação (Sulewski, 2000).

Os equipamentos de laser produzem uma luz com características específicas. Essa luz é monocromática (possui frequência muito bem definida), coerente (possui relações de fase bem definidas) e colimada (propaga-se como um feixe unidirecional). Sua classificação está vinculada ao meio ativo que pode ser sólido (cristal), líquido (corantes) ou gasoso (Hélio-Neônio, CO₂) que determina seu comprimento de onda diferenciando a interação com cada tecido (Coluzzi, 2000).

A interação laser-tecido depende de parâmetros de radiação, como o modo de emissão do feixe (Brugnera Junior & Pinheiro 1998), distância focal (Chimello *et al.*, 2008), fluxo de água (Colucci *et al.*, 2008), comprimento de onda (Featherstone *et al.*, 1998), densidade de energia (Borsatto *et al.*, 2009), duração e taxa de repetição de pulsos (Gonçalves *et al.*, 2008) e das propriedades dos tecidos biológicos como absorção, reflexão, transmissão e dispersão, bem como das características espaciais, temporais e propriedades ópticas (Gimbel, 2000).

A doença cárie é um processo crônico, de natureza dinâmica, originada pelo desequilíbrio dos fenômenos de desmineralização - remineralização, no qual grande quantidade de mineral é perdida pelos tecidos dentários (Thylstrup *et al.*, 1988). Quando o esmalte é exposto aos ácidos formados durante o metabolismo bacteriano, seus minerais são

removidos dos cristais de hidroxiapatita, que reduz seu tamanho, e leva a ampliação dos espaços intercristalinos, aumentando a porosidade da superfície dentária.

Dentre os recursos utilizados no controle da desmineralização do esmalte em dentes decíduos tem-se a aplicação de compostos fluoretados, sob diferentes formas de apresentação como gel e verniz (Weintraub *et al.*, 2006; Castellan *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2009) e dentrífício fluoretado (Santos *et al.*, 2009; Hellwig *et al.*, 2010) em diferentes concentrações. O principal efeito dos fluoretos é interferir na dinâmica da doença cárie, reduzindo a desmineralização e aumentando a remineralização do substrato dentário (Tatevossian, 1990). A capacidade do flúor fosfato acidulado em tornar o substrato do dente decíduo mais ácido resistente quando submetidos a desafios cariogênicos foi constatado por Castellan *et al.* em 2007. Com o objetivo de se obter um contato mais prolongado dos fluoretos com o esmalte dentário foi introduzido o verniz fluoretado (Beltran-Aguilar *et al.*, 2000), que são fáceis de aplicar e seguros (Bawden, 1998). No entanto, para que os fluoretos exerçam um papel efetivo no controle da desmineralização é importante sua presença constante na cavidade bucal (Ogaard, 2001).

A alta atividade da doença cárie em dentes decíduos impulsionou o aperfeiçoamento dos métodos preventivos existentes, bem como a introdução de técnicas inovadoras como a irradiação com o laser de CO₂ (Tange *et al.*, 2000; Tagliaferro *et al.*, 2007; da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009), a fim de agir como coadjuvantes no controle da doença cárie.

Desenvolvido por Patel *et al.* em 1964 o laser de CO₂ emite luz infravermelha com comprimento de onda de 9.3, 9.6, 10.3 ou 10.6 µm, fora do espectro visível ao olho humano. Esses comprimentos de onda são mais apropriados para a utilização em esmalte dentário, pois produzem radiação na região do infravermelho que coincide com algumas bandas de absorção da hidroxiapatita, principalmente os grupamentos fosfato e carbonato (Featherstone *et al.*, 1998). Desta forma, maior efetividade na prevenção de cárie pode ser obtida com menor ocorrência de efeitos deletérios aos tecidos dentários (Zuerlein *et al.*, 1999), proporcionando menor dissipação de raios incidentes, com maior rapidez e eficácia do laser. A maior parte da radiação do laser de CO₂ é absorvida nos poucos micrometros externos da superfície do esmalte e convertida em calor, causando perda de carbonato do mineral e fusão dos cristais de hidroxiapatita, diminuindo, desta forma, os espaços interprismáticos (Klein *et al.*, 2005; Tsai *et al.*, 2002), além de, aumentar sua resistência

ácida, reduzir a reatividade do mineral, promovendo assim um efeito cárie preventivo (Rodrigues *et al.*, 2004; da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009).

Considerando que o laser de CO₂ propicia a criação de uma superfície ácido resistente e frente a escassez de estudos que avaliem a influência do laser de CO₂ no esmalte decíduo desmineralizado, faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas *in vitro*, afim de que esta tecnologia seja aplicada de maneira segura na clínica Odontopediátrica.

PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* o efeito da irradiação do laser de CO₂ e de compostos fluoretados no controle da progressão de lesões de cárie em esmalte de dentes decíduos desmineralizados por meio da análise da microdureza subsuperficial.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

O fator em estudo foi o tratamento superficial em 4 níveis [CO₂ - laser de CO₂ comprimento de onda 10.6 µm; VF - verniz fluoretado a 5 %; FFA - flúor fosfato acidulado a 1,23%; ST - sem tratamento (controle)]. A amostra do experimento foi composta por 40 fragmentos de esmalte humano decíduo que foram distribuídos entre os 4 tratamentos de superfície (n=10), de acordo com um delineamento em blocos completos e casualizados. A variável de resposta quantitativa foi a microdureza subsuperficial (KHN) do substrato submetido ao desafio cariogênico. A figura 1 representa o desenho esquemático da metodologia empregada.

Aspectos éticos

Foram utilizados caninos humanos decíduos hígidos, previamente obtidos do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto / USP (processo nº 2010.1.1373.58.9) aprovado pelo comitê de ética em pesquisa.

Seleção e preparo das amostras

Os dentes decíduos foram limpos com curetas periodontais, seguida de profilaxia com pasta de pedra-pomes e água realizada com taça de borracha em baixa rotação (N270, Dabi Atlante, Ribeirão Preto SP, Brasil) e armazenada em solução de timol 0,1% a 4°C (Kwon *et al.*, 2005). A ausência de trincas, hipoplasia e hipomineralização foi comprovada através de lupa estereoscópica com aumento de 20X (Leica, S6 D Stereozoom, Leica Microsystems AG, Suíça). Posteriormente, os dentes foram seccionados na junção amelo-cementária em máquina de corte (Isomet 1000; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), refrigerada à água de modo a separar as porções coronárias e radiculares. A face vestibular de cada dente foi seccionada para obter um fragmento de esmalte medindo 3x3x2 mm.

Os fragmentos foram fixados em blocos de resina acrílica utilizando cera fundida (Cera Escultura Prótese Fixa, Asfer Indústria Química Ltda., São Caetano do Sul - SP, Brasil) com as subsuperfícies voltadas para o meio externo. Em seguida, as subsuperfícies foram planificadas em Politriz giratória (DP-9U2; Struers S/A, Copenhagen, Dinamarca) refrigerada à água com lixas d'água de granulação 1200 (Hermes Abrasives Ltd., VA, EUA) e polidas com pasta de alumina 0.3 µm (Arotec S/A Ind. Com., São Paulo, Brasil) em disco de feltro polidor (ATM, Altenkirchen, Alemanha) (Hara *et al.*, 2003). Para que se obtivesse uma amostra de

fragmentos padronizada, foram realizadas três leituras na lateral dos fragmentos (subsuperfície) distantes 30 μm da superfície e a 100 μm , uma da outra, por meio de um microdurômetro HMV-2000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) (Hara *et al.*, 2003) com penetrador de diamante para dureza Knoop (KHN) e célula de carga de 25 gramas durante 5 segundos (Klein *et al.*, 2005; Rodrigues *et al.*, 2006). A média das 3 medidas foi utilizada como o valor de microdureza inicial do fragmento, sendo que os fragmentos que apresentaram valor médio (20%) superior ou inferior ao valor da média geral de todos os fragmentos foram descartados (Hara *et al.*, 2006). Quarenta fragmentos de esmalte de dente decíduo foram selecionados baseados nos valores de dureza Knoop iniciais da lateral de seus fragmentos.

Desafio cariogênico inicial

Com o objetivo de se obterem lesões iniciais microscópicas de mancha branca padronizadas, simulando pacientes com alta atividade da doença cárie, um desafio cariogênico artificial foi realizado em todos os fragmentos. Os espécimes foram reposicionados com a superfície vestibular voltada para o meio externo nos blocos de resina e fixados com cera. Todas as superfícies, exceto a vestibular, foram cobertas com cera fundida e armazenados individualmente em recipientes plásticos. O desafio cariogênico inicial foi realizado durante 5 dias conforme o protocolo proposto por Argenta *et al.*, 2003. Neste modelo, lesões de cárie artificiais foram produzidas pela imersão dos fragmentos em solução desmineralizante (pH 4,6), por 3 horas e solução remineralizante (pH 7,0), por 21 horas à temperatura de 37°C. Após a indução de lesões artificiais de cárie os espécimes foram mantidos em umidade relativa por 2 dias à temperatura de 4°C.

Tratamento superficial

De acordo com o delineamento de blocos completos e casualizados, os espécimes foram divididos de acordo com o tratamento em 4 grupos (n =10): CO₂ - laser de CO₂, VF - verniz fluoretado a 5%, FFA - flúor fosfato acidulado a 1,23%, ST - sem tratamento (controle).

O laser de CO₂ com $\lambda = 10.6 \mu\text{m}$ (PC 015–D CO₂ laser system, Shanghai Jue Hua Laser Tech. Development Co., Ltd., Shanghai, China), foi aplicado no modo ultrapulso, com potência de 0,5 W, densidade de energia de 0,04 J/cm², duração do pulso de 100 μs e intervalo entre os pulsos de 0,001 segundos e diâmetro do feixe de 0,4mm. A distância de

irradiação foi padronizada por um dispositivo que acopla a caneta do laser mantendo-a fixa numa altura pré-estabelecida de 4 mm (Tepper *et al.*, 2004), enquanto o conjunto dente/placa de acrílico foi posicionado numa base ajustável que permite sua movimentação sincronizada nos eixos XYZ, ou seja, para direita e esquerda, para frente e para trás e para cima e para baixo. Este aparelho possibilitou a varredura completa e uniforme da superfície dentária pelo feixe laser, durante 20 segundos. Após a irradiação, os espécimes foram mantidos em saliva artificial a 37°C por 24 horas. Para o preparo da saliva artificial, os reagentes (213mg de $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 738mg de KH_2PO_4 , 1.114mg de KCl, 381mg de NaCl, 12g de tampão Tris, 2,2g de mucina gástrica, q.s.p. 1 litro) foram pesados em balança analítica (AB204-S/FACT, Mettler Toledo, Columbus, OH, EUA) e submetidos à agitação, ajustando o pH da solução para 7,0.

Para os fragmentos que receberam o verniz fluoretado (Duraphat; Colgate-Palmolive Ind. Com. Ltda, São Paulo, SP, Brasil, lote 11. 07-02, pH 4,5) foi aplicado 0,1g do produto (Attin *et al.*, 2005), com microbrush (Dentsply Ind. Com. Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), pesado em balança de precisão por um minuto na superfície seca do esmalte. Após 24 horas de armazenamento em saliva artificial a 37°C, o verniz fluoretado foi removido com auxílio de lâmina de bisturi (Free-Bac, China), simulando a escovação dental.

Nos fragmentos que receberam o flúor fosfato acidulado 1,23% (DFL Ind. Com. Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, pH 3,6) 0,1 g do produto pesado em balança de precisão foi aplicado por 1 minuto (Villena *et al.*, 2009) na superfície dental também com auxílio de microbrush e, em seguida, o flúor foi removido do esmalte com papel absorvente e os espécimes foram armazenados em saliva artificial a 37°C. O grupo controle não recebeu tratamento, sendo mantido em saliva artificial a 37°C por 24 horas.

Desafio cariogênico pós-tratamento superficial

Os espécimes foram colocados novamente em recipientes plásticos e todas as superfícies, exceto a superfície tratada, foram cobertas com cera fundida. Foi realizada a ciclagem de pH do mesmo modo descrito anteriormente, por 5 dias, com o objetivo de simular uma condição de alto desafio cariogênico.

Teste de Microdureza

Após o período de desafio cariogênico pós-tratamento superficial os espécimes foram seccionados longitudinalmente e, em seguida, os fragmentos foram fixados com cera fundida deixando a parte interna (seccionada) destes expostos, que foram polidos em Politriz. Após o polimento, os fragmentos foram observados em microscópio óptico para verificar a lisura superficial e submetidos à limpeza em ultra-som (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por dois minutos para a remoção dos resíduos de polimento. As impressões foram realizadas em uma das hemi-seções mantendo o longo eixo do diamante do penetrador paralelo à superfície externa do esmalte utilizando carga estática de 25 gramas durante 5 segundos (Castellan *et al.*, 2007). Foram realizadas três medidas no centro do fragmento, com 100 μm de distância uma da outra, a 30 μm da superfície, utilizando o microdurômetro HMV-2000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).

Análise estatística

A média dos valores de microdureza subsuperficial Knoop de cada espécime foi analisada e apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variância. Sendo assim a Análise de Variância (ANOVA) foi empregada. O teste de Duncan foi usado para averiguar a diferença entre as médias do fator tratamento superficial com o auxílio do programa SPSS 12.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) com nível de significante de 5%.

Figura 1. A. Secção dos dentes. B. Obtenção dos fragmentos. C. Fixação dos espécimes. D. Planificação e polimento da subsuperfície do esmalte. E. Análise de microdureza para seleção dos espécimes. F. Desafio cariogênico inicial. G. Tratamentos superficiais. H. Desafio cariogênico pós-tratamento superficial. I. Secção dos fragmentos. J. Fixação dos fragmentos. K. Planificação e polimento da subsuperfície do esmalte. L. Avaliação final da microdureza.

RESULTADOS

Os resultados de microdureza demonstraram que os tratamentos superficiais realizados no esmalte de dentes decíduos foram diferentes estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$), como mostra a tabela 1.

Tabela 1: Média e desvio padrão nos diferentes grupos experimentais

TRATAMENTO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
LASER DE CO ₂	324,99 a	33,78
FLÚOR FOSFATO ACIDULADO a 1,23%	309,30 a	68,42
VERNIZ FLUORETADO a 5%	211,66 b	54,22
SEM TRATAMENTO (CONTROLE)	209,86 b	67,03

Letras iguais indicam similaridade estatística.

O teste de Duncan mostrou que o tratamento superficial com laser de CO₂ obteve os maiores valores de microdureza (KNH) em esmalte de dentes decíduos, porém não foi estatisticamente diferente do flúor fosfato acidulado a 1,23%. Contudo, houve diferença estatisticamente significativa com os demais grupos (controle e verniz fluoretado a 5%).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos sem tratamento (controle) e verniz fluoretado a 5%. O gráfico 1 representa os valores de microdureza dos tratamentos superficiais.

Gráfico 1. Valores de microdureza (média e desvio padrão) de acordo com os tratamentos superficiais

DISCUSSÃO

A cárie dentária pode ser definida como uma doença de natureza infecciosa, que resulta da interação de vários fatores, ocasionando a perda das estruturas dentais mineralizadas e consequente destruição orgânica desses tecidos (Cury, 2001). Esses fatores incluem o uso de uma dieta rica em carboidratos fermentáveis, que servem de substrato para os microrganismos cariogênicos, os quais atuam na superfície dental com maior ou menor intensidade, na dependência da suscetibilidade do hospedeiro (Berkowitz, 2003) e do tempo de interação entre esses fatores.

Compostos fluoretados (Santaella *et al.*, 2004; Jiang *et al.*, 2005; Weintraub *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2009; Hellwig *et al.*, 2010) e o laser de CO₂ (da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009), tem sido empregados na prevenção e controle de lesões de cárie em dentes decíduos com o intuito de interferir nos processos de des-remineralização. O laser de CO₂ é responsável por aumentar a resistência ácida do esmalte irradiado (Rodrigues *et al.*, 2004; da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009) e os fluoretos são capazes de se incorporar a esse substrato prevenindo a instalação de lesões cariosas, promovendo menor desmineralização e maior remineralização do esmalte pelo ganho de minerais (Tatevossian, 1990).

O comportamento do Laser de CO₂ no esmalte de dentes decíduos e permanentes pode ser distinto devido as diferenças existentes entre esses substratos. O esmalte do dente decíduo, apresenta prismas que se direcionam paralelamente entre si, em uma zona de aproximadamente 30 µm, denominada camada aprismática (Low *et al.*, 2008), que pode interferir nos processos de desmineralização (Kuhar *et al.*, 1997), sendo mais espessa e uniforme em comparação ao esmalte permanente (Fava *et al.*, 1997). A mineralização dos dentes decíduos é menor em relação aos dentes permanentes, sendo que a porcentagem de cálcio e fosforo é menor nos dentes decíduos (de Menezes Oliveira *et al.*, 2010), a espessura do esmalte decíduo é quase a metade do esmalte do dente permanente (Mortimer, 1970), além de apresentar diferente translucidez, o que pode estar associada à maior porosidade.

A variável de resposta para quantificar a resistência ácida do esmalte decíduo empregada nesse estudo foi a microdureza subsuperficial, a qual permite verificar a perda ou ganho de mineral, após ciclos de des e remineralização (Castellan *et al.*, 2007). Nesse estudo, as medidas foram iniciadas a 30 µm da superfície do esmalte decíduo, ou seja, o mais próximo possível da superfície dental, uma vez que medidas iniciadas a 25 µm de profundidade não são adequadas (Featherstone & Zero, 1992; Arends & ten Bosch, 1992).

No presente estudo, o tratamento superficial com laser de CO₂ obteve os maiores valores de microdureza (KNH) em esmalte de dentes decíduos desmineralizado, mas não foi estatisticamente diferente do flúor fosfato acidulado a 1,23%. A provável justificativa para o aumento da resistência ácida do esmalte decíduo após tratamento com o laser de CO₂, é decorrente do efeito térmico (Fox *et al.*, 1992; Phan *et al.*, 1999). Ao aquecer a superfície dental, o laser de CO₂ causa redução no conteúdo de carbonato e desnaturação parcial da matriz do esmalte (Featherstone & Nelson, 1987; Hsu *et al.*, 2000), o que provoca a diminuição da permeabilidade, dificulta a difusão dos ácidos e, conseqüentemente, reduz a desmineralização da estrutura (Can *et al.*, 2008; da Silva Tagliaferro *et al.*, 2009; Esteves-Oliveira *et al.*, 2009).

A redução do conteúdo de carbonato observada em esmalte de dentes permanentes promovida pela irradiação com laser de dióxido de carbono (Kuroda & Fowler, 1984; Nelson *et al.*, 1987; Phan *et al.*, 1999; Zuerlein *et al.*, 1999) resulta em menor solubilidade da hidroxiapatita (Featherstone, 2000). O aumento do tamanho dos cristais (Kantola *et al.*, 1973; Ferreira *et al.*, 1989; McCormack *et al.*, 1995), o derretimento (Kuroda & Fowler, 1984; Nelson *et al.*, 1987; Ferreira *et al.*, 1989; Meurman *et al.*, 1992; McCormack *et al.*, 1995; Tsai *et al.*, 2002), a fusão e a recristalização (Kantola *et al.*, 1973) do esmalte irradiado também reduziram a dissolução do esmalte de dentes permanentes frente ao desafio ácido.

O esmalte dental irradiado com o laser de CO₂ ($\lambda=10.6 \mu\text{m}$) apresentou áreas circulares, de fusão, vitrificação, presença de gotículas cristalizadas e sulcos em forma de ondas. Essas alterações podem fundir regiões de má-coalescência do esmalte dentário como cicatrículas e fissuras, diminuindo os nichos disponíveis para o acúmulo de resíduos na superfície oclusal (Brugnera-Júnior e Pinheiro, 1998).

Por outro lado, de acordo com alguns pesquisadores o emprego de densidades de energia entre 0,3 e 12 J/cm² com comprimento de onda de 10.6 μm , em modo pulsado, tem causado pouca ou nenhuma mudança morfológica (Kantorowitz *et al.*, 1998; Hsu *et al.*, 2000). Baseados nesta afirmativa, o derretimento e a fusão da superfície podem não ser necessários para aumentar a resistência ácida do esmalte, como observado por da Silva Tagliaferro *et al.* em 2009 que não observaram alterações físicas na superfície do esmalte decíduo tratado com laser de CO₂.

Tem sido relatado que quando uma solução ou gel contendo alta concentração de fluoreto entra em contato com a superfície dental, ocorre dissolução da camada mais

externa do esmalte (0,1 a 0,2 μm) e o cálcio dissolvido é reprecipitado na forma de fluoreto de cálcio (Margolis & Moreno, 1990). Este composto serve como um reservatório de fluoreto para ser liberado durante os desafios cariogênicos (Bruun & Givskov, 1991; Øgaard, 2001). Adicionalmente, a formação de depósitos minerais enriquecidos com flúor no interior do esmalte poderia bloquear parcialmente o transporte de ácidos no mineral (diminuição da taxa da difusão), um fenômeno que reduziria a formação e/ou a progressão de lesões de cárie (Takagi *et al.*, 2000). Sendo assim estudos comprovaram que aplicações tópicas de flúor fosfato acidulado em dentes decíduos são eficazes no processo de desmineralização e controle de lesões de cárie (Jiang *et al.*, 2005; Castelan *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2009).

A redução do pH dos agentes fluoretados proporciona aumento da deposição de fluoreto de cálcio durante a aplicação tópica (Rolla *et al.*, 1990). Tenuta *et al.* em 2008, afirmam que mais importante do que ter fluoreto em altas concentrações no esmalte, é possuir fluoreto disponível na cavidade bucal para ser incorporado à estrutura dental. Assim, quando o mineral solúvel hidroxiapatita for dissolvido como consequência do processo de cárie, podem ser recomendadas aplicações tópicas diárias por grandes períodos, com menor concentração de fluoreto (Mellberg *et al.*, 1967). A aplicação tópica de fluoretos mais ácidos e mais concentrados, poderia oferecer uma maior proteção contra a desmineralização do esmalte dentário (Delbem *et al.*, 2002; Wiegand *et al.*, 2005), com maior incorporação de fluoreto ao esmalte (Villena *et al.*, 2009).

O tempo de aplicação do FFA de um minuto foi estabelecido em função de não haver diferenças significativas na inibição (Delbem *et al.*, 2002) ou na redução da profundidade da lesão de cárie (Garcia-Godoy *et al.*, 1994), bem como na incorporação de flúor ao esmalte (Villena *et al.*, 2009) com tempos de aplicação de um ou quatro minutos.

No presente estudo, não foram encontradas diferenças na microdureza subsuperficial entre os tratamentos realizados com o verniz fluoretado a 5% e o grupo sem tratamento (controle). Esses resultados podem ser justificados em função do verniz fluoretado a 5% ter sido aplicado uma única vez, a literatura revela controle da progressão de lesões de cárie em esmalte decíduo por meio de três aplicações em estudos *in vivo* (Castillo *et al.*, 2004; Weinstein *et al.*, 2009), e *in vitro* (Seppä, 1988). Outro aspecto a ser observado é que foram realizadas duas etapas de ciclagem de pH (antes e após os tratamentos), simulando um paciente com alto desafio cariogênico com maior risco ao

desenvolvimento de lesões de cárie, sendo que quanto maior o grau de desmineralização mais difícil é o controle da cárie.

Tem-se também que o pH do verniz fluoretado a 5% (pH = 4,5) é maior do que o apresentado pelo FFA a 1,23% (pH = 3,6) podendo levar a formação de menor quantidade de fluoreto de cálcio, sendo que, cerca de 20% do fluoreto presente está numa forma solúvel (Hayacibara *et al.*, 2004).

Revisões sistemáticas (Rozier *et al.*, 2001; Marinho *et al.*, 2002) em relação ao efeito preventivo dos vernizes fluoretados na dentição decídua são contraditórias, sendo observado benefício substancial à dentição decídua (Marinho *et al.*, 2002). No entanto Petersson *et al.* em 2004 e Rozier *et al.* em 2001, não encontraram evidências conclusivas de que o tratamento com verniz fluoretado reduza a incidência de cárie. A Academia Americana de Odontopediatria 2009/2010 recomenda o uso profissional do verniz fluoretado para prevenir ou reverter a desmineralização do esmalte dentário em crianças com risco moderado ou elevado de desenvolver cárie dentária, sendo que a ação do fluoreto dependente da técnica e frequência de aplicação da substância fluoretada (Mandel, 1996; Clarkson *et al.*, 2000).

Devido as dificuldades relacionadas a modelos de estudo *in vivo*, no que diz respeito à ética e a complexidade do meio bucal, modelos laboratoriais que simulam o meio bucal *in vitro* foram desenvolvidos (Argenta *et al.*, 2003; Castellan *et al.*, 2007). Estes modelos consistem na exposição do esmalte de dente decíduo a ciclos combinados de des e remineralização que visam simular as variações dinâmicas de saturação mineral e pH associado com o processo natural do desenvolvimento das lesões de cárie.

O modelo de ciclos de pH para avaliar a influência de diferentes tratamentos no controle de lesões de cárie em esmalte humano foi empregado primeiramente por Featherstone *et al.* em 1986 e modificado para dentes decíduos por Argenta *et al.* em 2003, onde os espécimes foram submetidos a desafios cariogênicos por 5 dias, sendo as amostras individualmente imersas em solução DES (pH=4,6) por 3 horas e solução RE (pH=7,0) por 21 horas que apresenta um grau de saturação dos minerais semelhante a saliva.

Sendo assim, o laser de CO₂ pode ser um recurso adicional contribuindo no controle da progressão de lesões de cárie em esmalte de dentes decíduos e estudos devem ser realizados com o intuito de verificar sua ação em um ambiente que simule as condições clínicas por meio do desenvolvimento de protocolos *in situ*.

CONCLUSÃO

Considerando a metodologia utilizada e os resultados obtidos pode-se concluir que:

O laser de CO₂ e o flúor fosfato acidulado a 1,23% proporcionaram maior controle da progressão de lesões de cárie em esmalte decíduo desmineralizado.

A microdureza do esmalte do dente decíduo desmineralizado que recebeu aplicação do verniz fluoretado a 5%, foi semelhante ao grupo que não recebeu tratamento superficial, apresentando as menores médias.

REFERÊNCIAS

1. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on use of fluoride. Pediatric Dentistry. Reference manual 2009/2010;31(6):34-35.
2. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. J Dent Res 1992;71:924-928.
3. Argenta RM, Tabchoury CP, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. Pesqui Odontol Bras 2003;17(3):241-246.
4. Attin T, Grieme R, Paqué F, Hannig C, Buchalla W, Attin R. Enamel fluoride uptake of a novel water-based fluoride varnish. Archives of Oral Biology 2005;50(3):317-322.
5. Bawden JW. Fluoride varnish: a useful new tool for public health dentistry. J Public Health Dent 1998;58(4):266-269.
6. Beltrán-Aguilar ED, Goldstein JW, Lockwood SA. Fluoride varnishes. A review of their clinical use, cariostatic mechanism, efficacy and safety. J Am Dent Assoc 2000;131(5):589-596.
7. Berkowitz RJ. Acquisition and transmission of mutans streptococci. J Can Dent Assoc 2003;31:153-158.
8. Borsatto MC, Torres CP, Chinelatti MA, Pécora JD, Corona SA, Palma-Dibb RG. Effect of Er:YAG laser parameters on ablation capacity and morphology of primary enamel. Photomed Laser Surg 2009;27:253-260.
9. Brugnera Jr A, Pinheiro AL. Laser na odontologia moderna. São Paulo: Pancast; 1998.
10. Bruun C, Givskov H. Formation of CaF₂ on sound enamel and in caries-like enamel lesions after different forms of fluoride applications *in vitro*. Caries Res 1991;25(2):96-100.
11. Can AM, Darling CL, Ho C, Fried D. Non-destructive assessment of inhibition of demineralization in dental enamel irradiated by CO₂ laser at ablative irradiation intensities with PS-OCT. Lasers in Surgery and Medicine 2008;40(5):342-349.
12. Castellan CS, Luiz AC, Bezinelli LM, Lopes RM, Mendes FM, De P Eduardo C, De Freitas PM. *In vitro* evaluation of enamel demineralization after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on primary teeth. Photomed Laser Surg 2007;25(2):85-90.
13. Castillo JL, Milgrom P. Fluoride release from varnishes in two *in vitro* protocols. J Am Dent Assoc 2004;135(12):1696-1699.
14. Chimello DT, Serra MC, Rodrigues-Júnior AI, Pécora JD, Corona SA. Influence of Er:YAG laser on microhardness of enamel adjacent to restorations submitted to cariogenic challenge *in situ*. Photomed Laser Surg 2008;26(4):379-385.

15. Clarkson JJ, McLoughlin J. Role of fluoride in oral health promotion. *Int Dent J* 2000;50(3):119-128.
16. Colucci V, Lucisano MP, do Amaral FL, Pécora JD, Palma-Dibb RG, Corona SA. Influence of water flow rate on shear bond strength of resin composite to Er:YAG cavity preparation. *Am J Dent* 2008;21:124-128.
17. Coluzzi DJ. An overview of laser wavelengths used in dentistry. *Dent Clin North Am* 2000;44:753-765.
18. Cury JA. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: Baratieri, LN et al. *Odontologia restauradora – Fundamentos e possibilidades*. São Paulo: Editora Santos; 2001.
19. da Silva Tagliaferro EP, Rodrigues LK, Soares LE, Martin AA, Nobre-dos-Santos M. Physical and compositional changes on demineralized primary enamel induced by CO₂ Laser. *Photomed Laser Surg* 2009;27(4):585-590.
20. De Menezes Oliveira MAH, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FCH, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Microstructure and Mineral Composition of Dental Enamel of Permanent and Deciduous Teeth. *Microscopy Research and Technique* 2010;73:572-577.
21. Delbem AC, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of *in vitro* enamel caries. *Am J Dent* 2002;15(3):169-172
22. Einstein A. Zur quantum theorie der strhkung (On the quantum theory of radiation). *Phisics Zeitung* 1917;18:121.
23. Esteves-Oliveira M, Zezell DM, Meister J, Franzen R, Stanzel S, Lampert F, Eduardo CP, Apel C. CO₂ laser (10.6 µm) parameters for caries prevention in dental enamel. *Caries Research* 2009;43(4):261-268.
24. Fava M, Watanabe I, Moraes FF, Costa LRRS. Prismless enamel in human non erupted deciduous molar teeth: A scanning electron microscopic study. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1997;11:239-243.
25. Featherstone JD, Barrett-Vespone NA, Fried D, Kantorowitz Z, Seka W. CO₂ laser inhibitor of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J Dent Res* 1998;77(6):1397-1403.
26. Featherstone JD, Nelson DG. Laser effects on dental hard tissues. *Advances in Dental Research* 1987;1(1):21-26.
27. Featherstone JD, Zero DT. An *in situ* model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *J Dent Res* 1992;71:804-810.

28. Featherstone JD. Caries detection and prevention with laser energy. *Dent Clin North Am* 2000;44(4):955-969.
29. Featherstone JDB, O'really MM, Shariaty M. Enhancement of remineralization *in vitro* and *in vivo*. In: Leach AS, editor. Factors relating to demineralization and remineralization of teeth. IRL: Oxford 1986;23-34.
30. Ferreira JM, Palamara J, Phakey PP, Rachinger WA, Orams HJ. Effects of continuous-wave CO₂ laser on the ultrastructure of human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1989;34(7):551-562.
31. Fox JL, Yu D, Otsuka M, Higuchi WI, Wong J, Powell GL. Initial dissolution rate studies on dental enamel after CO₂ laser irradiation. *Journal of Dental Research* 1992;71(7):1389-1398.
32. Garcia-Godoy F, Hicks MJ, Flaitz CM, Berg J. Acidulated phosphate fluoride treatment and formation of caries-like lesions in enamel: effect of application time. *Pediatr Dent* 1994;16(2):158.
33. Gimbel CB. Hard tissue laser procedures. *Dent Clin North Am* 2000;44:931-953.
34. Gonçalves M, Corona SA, Palma-Dibb RG, Pécora JD. Influence of pulse repetition rate of Er:YAG laser and dentin depth on tensile bond strength of dentin-resin interface. *J Biomed Mater Res A* 2008;86(2):477-482.
35. Gordon JP, Zeiger HJ, Townes CH. Maser – new type of microwave amplifier, frequency standard, and spectrometer. *Phys Rev* 1955;99:1264-1274.
36. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine *in situ*. *Caries Research* 2003;37(5):339-344.
37. Hara AT, Turssi CP, Ando M, González-Cabezas C, Zero DT, Rodrigues AL Jr, Serra MC, Cury JA. Influence of Fluoride-Releasing Restorative Material on Root Dentine Secondary Caries *in situ*. *Caries Research* 2006;40(5):435-439.
38. Hayacibara MF, Paes Leme AF, Lima YBO, Gonçalves NCLAV, Queiroz CS, Gomes MJ, Kozlowski FC. Alkali-soluble fluoride deposition on enamel after professional application of topical fluoride *in vitro*. *J Appl Oral Sci* 2004;12(1):18-21.
39. Hellwig E, Altenburger M, Attin T, Lussi A, Buchalla W. Remineralization of initial carious lesions in deciduous enamel after application of dentifrices of different fluoride concentrations. *Clin Oral Investig* 2010;14(3):265-269.
40. Hsu CY, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. *Journal of Dental Research* 2000;79(9):1725-1730.

41. Jiang H, Bian Z, Tai BJ, Du MQ, Peng B. The effect of a bi-annual professional application of APF foam on dental caries increment in primary teeth: 24-month clinical trial. *J Dent Res* 2005;84(3):265-268.
42. Kantola S, Laine E, Tarna T. Laser-induced effects on tooth structure. VI. X-ray diffraction study of dental enamel exposed to a CO₂ laser. *Acta Odontol Scand* 1973;31(6):369-379.
43. Kantorowitz Z, Featherstone JD, Fried D. Caries prevention by CO₂ laser treatment: dependency on the number of pulses used. *J Am Dent Assoc* 1998;129(5):585-591.
44. Klein AL, Rodrigues LK, Eduardo CP, Nobre dos Santos M, Cury JA. Caries inhibition around composite restorations by pulsed carbon dioxide laser application. *Eur J Oral Sci* 2005;113(3):239-244.
45. Kuhar M, Cevc P, Schara M, Funduk N. Enhanced permeability of acid etched or ground dental enamel. *J Prosthet Dent* 1997;77:578-582.
46. Kuroda S, Fowler BO. Compositional, structural, and phase changes in *in vitro* laser-irradiated human tooth enamel. *Calcif Tissue Int* 1984;36(4):361-369.
47. Kwon YH, Lee JS, Choi YH, Lee JM, Song KB. Change of enamel after Er:YAG and CO₂ laser irradiation and fluoride treatment. *Photomed Laser Surg* 2005;23(4):389-394.
48. Low IM, Duraman N, Mahmood U. Mapping the structure, composition and mechanical properties of human teeth. *Mater Sci Eng C* 2008;28:243-247.
49. Maiman TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature* 1960;187:493-494.
50. Mandel ID. Caries prevention: current strategies, new directions. *Journal of American Dental Association* 1996;127(10):1477-1488.
51. Margolis HC, Moreno EC. Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. *J Dent Res* 1990;69:606-613.
52. Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;(3):CD002279.
53. McCormack SM, Fried D, Featherstone JD, Glena RE, Seka W. Scanning electron microscope observations of CO₂ laser effects on dental enamel. *J Dent Res* 1995;74(10):1702-1708.
54. Mellberg JR, Englander HR, Nicholson CR. Acquisition of fluoride *in vivo* by deciduous enamel from daily topical sodium fluoride applications over 21 months. *Arch Oral Biol* 1967;12(10):1139-1148.
55. Meurman JH, Voegel JC, Rauhamaa-Mäkinen R, Gasser P, Thomann JM, Hemmerle J, Luomanen M, Paunio I, Frank RM. Effects of carbon dioxide, Nd:YAG and carbon dioxide-

- Nd:YAG combination lasers at high energy densities on synthetic hydroxyapatite. *Caries Res* 1992;26(2):77-83.
56. Mortimer KV. The relationship of deciduous enamel structure of dental disease. *Caries Res* 1970;4:206–223.
57. Nelson DG, Wefel JS, Jongebloed WL, Featherstone JD. Morphology, histology and crystallography of human dental enamel treated with pulsed low-energy infrared laser radiation. *Caries Res* 1987;21(5):411-426.
58. Øgaard B. CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries Res* 2001;35(1):40-44.
59. Patel CKN, McFarlane RA and Faust WL. Selective excitation through vibrational energy transfer and optical maser action in N₂-CO₂. *Physiol Rev* 1964;13:617-619.
60. Petersson LG, Twetman S, Dahlgren H, Norlund A, Holm AK, Nordenram G, Lagerlöf F, Söder B, Källestål C, Mejäre I, Axelsson S, Lingström P. Professional fluoride varnish treatment for caries control: a systematic review of clinical trials. *Acta Odontol Scand* 2004;62(3):170-176.
61. Phan ND, Fried D, Featherstone JDB. Laser-induced transformation of carbonated apatite to fluorapatite on bovine enamel. *Lasers in Dentistry V* 1999;3593:233-240.
62. Rodrigues LK, Nobre dos Santos M, Featherstone JD. *In situ* mineral loss inhibition by CO₂ laser and fluoride. *Journal of Dental Research* 2006;85(7):617-621.
63. Rodrigues LK, Nobre dos Santos M, Pereira D, Assaf AV, Pardi V. Carbon dioxide laser in dental caries prevention. *J Dent* 2004;32(7):531-540.
64. Rølla G, Saxegaard E. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. *J Dent Res* 1990;69:780-785.
65. Rozier RG. Effectiveness of methods used by dental professionals for the primary prevention of dental caries. *J Dent Educ* 2001;65(10):1063-1072.
66. Santaella MR, Braun A, Matson E, Frentzen M. Effect of diode laser and fluoride varnish on initial surface demineralization of primary dentition enamel: an *in vitro* study. *Int J Paediatr Dent* 2004;14(3):199-203.
67. Santos L de M, Reis JI, Medeiros MP, Ramos SM, Araújo JM. *In vitro* evaluation of fluoride products in the development of carious lesions in deciduous teeth. *Braz Oral Res* 2009;23(3):296-301.
68. Schawlow AL, Townes CH. Infrared and optical lasers. *Phys Rev* 1958;112:1940.

-
69. Seppä L. Effects of a sodium fluoride solution and a varnish with different fluoride concentrations on enamel remineralization *in vitro*. Scand J Dent Res 1988;96(4):304-309.
 70. Sulewski JG. Historical survey of laser dentistry. Dent Clin North Am 2000;44:717-752.
 71. Tagliaferro EP, Rodrigues LK, Nobre Dos Santos M, Soares LE, Martin AA. Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralized primary enamel: an *in vitro* study. Caries Res 2007;41(1):74-76.
 72. Takagi S, Liao H, Chow LC. Effect of tooth-bound fluoride on enamel demineralization/remineralization *in vitro*. Caries Res 2000;34(4):281-288.
 73. Tange T, Fried D, and Featherstone JDB. TEA-CO₂ laser inhibition of artificial caries-like lesion progression in primary and permanent tooth enamel. Lasers in Dentistry VI 2000;3910:306-313.
 74. Tatevossian A. Fluoride in dental plaque and its effects. J Dent Res 1990;69:645-652.
 75. Tenuta LM, Cerezetti RV, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Cury JA. Fluoride release from CaF₂ and enamel demineralization. J Dent Res 2008;87(11):1032-1036.
 76. 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*. Journal of Dentistry 2004;32(8):635-641.
 77. Thylstrup A, Fejerskov O. Tratado de cariologia. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1988.
 78. Tsai CL, Lin YT, Huang ST, Chang HW. *In vitro* acid resistance of CO₂ and Nd-YAG laser-treated human tooth enamel. Caries Res 2002;36(6):423-429.
 79. Villena RS, Tenuta LM, Cury JA. Effect of APF gel application time on enamel demineralization and fluoride uptake *in situ*. Brazilian Dental Journal 2009;20(1):37-41.
 80. Weinstein P, Spiekerman C, Milgrom P. Randomized equivalence trial of intensive and semiannual applications of fluoride varnish in the primary dentition. Caries Res 2009;43(6):484-490.
 81. Weintraub JA, Ramos-Gomez F, Jue B, Shain S, Hoover CI, Featherstone JD, Gansky SA. Fluoride varnish efficacy in preventing early childhood caries. J Dent Res 2006;85(2):172-176.
 82. Wiegand A, Krieger C, Attin R, Hellwig E, Attin T. Fluoride uptake and resistance to further demineralisation of demineralised enamel after application of differently concentrated acidulated sodium fluoride gels. Clin Oral Investig 2005;9(1):52-57.
 83. Zuerlein MJ, Fried D, Featherstone JD. Modeling the modification depth of carbon dioxide laser-treated dental enamel. Lasers Surg Med 1999;25(4):335-347.

ANEXO

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Comitê de Ética em Pesquisa

Of. CEP / 486 / FORP

Ribeirão Preto, 26 de novembro de 2010

Ref. processo n.º 2010.1.1373.58.9
CAAE n.º 0090.0.138.000-10

Senhor Pesquisador:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 115.^a sessão, realizada em 25/11/2010, aprovou o desenvolvimento do projeto de pesquisa envolvendo seres humanos, intitulado “Efeito da irradiação do laser de CO2 e de compostos fluoretados na inibição da progressão de lesões de cárie em dentes deciduos”.

Na oportunidade, lembramos da necessidade de ser entregue, na secretaria do CEP, o **Relatório Final** em 25/03/2011, com o respectivo formulário preenchido pelo pesquisador responsável.

Lembramos ainda que, quando da submissão do relatório a este Comitê, quaisquer inclusões ou modificações no projeto original deverão ser comunicadas e justificadas ao CEP, através do formulário supracitado.

JULIANA GODOI DE OLIVEIRA SILVA
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilmo. Sr.

PG. RODRIGO ALEXANDRE VALÉRIO (Profa. Dra. Silmara Aparecida Milori Corona)
Departamento de Odontologia Restauradora
desta Faculdade