

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ODONTOPEDIATRIA

EFEITO DA PROFILAXIA SEMANAL NO  
DESENVOLVIMENTO *IN SITU* DE LESÃO CARIOSAS  
EM DENTINA

FREDERICO BARBOSA DE SOUSA

FLORIANÓPOLIS  
1996

EFEITO DA PROFILAXIA SEMANAL NO  
DESENVOLVIMENTO *IN SITU* DE LESÃO CARIOSAS  
EM DENTINA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ODONTOPEDIATRIA

FREDERICO BARBOSA DE SOUSA

EFEITO DA PROFILAXIA SEMANAL NO  
DESENVOLVIMENTO *IN SITU* DE LESÃO CARIOSA  
EM DENTINA

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre pelo curso de pós-graduação em Odontologia - área de concentração em Odontopediatria - do Departamento de Estomatologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. David Rivero Tames

FLORIANÓPOLIS  
1996

FREDERICO BARBOSA DE SOUSA

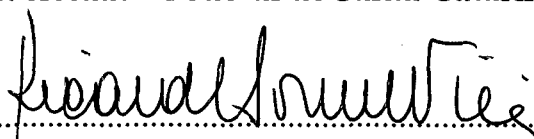
EFEITO DA PROFILAXIA SEMANAL NO  
DESENVOLVIMENTO *IN SITU* DE LESÃO CARIOSA  
EM DENTINA

Aprovada em 30 / 10 / 1996

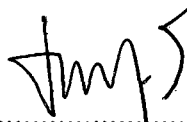
BANCA EXAMINADORA



.....  
Prof. Dr. DAVID RIVERO TAMES - Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina



.....  
Prof. Dr. RICARDO DE SOUSA VIEIRA  
Universidade Federal de Santa Catarina



.....  
Prof. Dr. SYLVIO MONTEIRO JUNIOR  
Universidade Federal de Santa Catarina



Às minhas mães Elisa Barbosa de Sousa, Maria Amábília de Araújo e Maria Clotildes de Araújo, sem cujo amor e apoio irrestrito e incondicional seria impossível a realização deste trabalho, e a quem eu devo a vida, DEDICO. À minha grande companheira, Leila Cristiani Correia de Freitas, que me esteve sempre ajudando com suas palavras positivas, sua compreensão e seu grande amor, dando uma importante contribuição para a realização deste estudo, DEDICO.

# AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. David Rivero Tames, um pesquisador humilde, respeitador, destemido e incentivador, que só tem a acrescentar ao trabalhar em conjunto com outras pessoas, tornando premiados aqueles que têm o prazer de ser seus orientados.

À grande amiga Cecilia Claudia Costa Ribeiro, que colaborou na realização do experimento piloto desta dissertação, e que sempre me apoiou e incentivou durante todo o curso de pós-graduação.

Aos colegas de curso: Flávia Pilatti, Karem Glazer, Sandra Teixeira, José Márcio Lenzi, Sérgio Zanini e André Luís Tannus, pelos bons momentos de coleguismo que passamos juntos nos dois anos de curso.

Ao Prof. Ricardo de Sousa Vieira, representando a Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia desta Instituição, pelo apoio financeiro à realização deste trabalho.

À simpática e sempre bem humorada Magda Lange Ramos, bibliotecária responsável pela biblioteca setorial de Odontologia do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, pela boa vontade com que atende a todos os estudantes, e a mim em especial, que sempre estive perturbando-a.

Aos alunos de Odontologia da UFSC que participaram como voluntários neste estudo, usando os aparelhos palatais removíveis: Régis Augusto Knop, Luciano Caldeira de Andrade, Larissa Boettger, Maycon Salmoria, Berenice Beltrami, Perla Maiochi, Gustavo Belli, Fernando Campos Masiro, e Gilberto Kauling Bisol.

À Prof.a. Ana Maliska, do Laboratório de Materiais da Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina, pela assistência dada nas análises com a microscopia eletrônica de varredura e com espectroscopia de dispersão de raios X.

# SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	17
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b>	23
<b>2.1 Eliminação total da AMI</b>	24
<b>2.2 Eliminação parcial ou total da AMI com posterior restituição da mesma</b>	32
<b>3 PROPOSIÇÃO</b>	47
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	49
<b>4.1 Preparação dos espécimens</b>	50
<b>4.2 Voluntários</b>	52
<b>4.3 Confeção do Aparelho Palatal Removível (APR)</b>	53
<b>4.4 Procedimentos Clínicos</b>	54
<b>4.5 Preparo para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</b>	56
<b>4.6 Análise em Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDE)</b>	57
<b>5 RESULTADOS</b>	58
<b>5.1 Observações da placa dental</b>	59
<b>5.2 Observações morfológicas</b>	61
5.2.1 Espécimens polidos	61
5.2.2 Grupo-Controle	64
5.2.3 Grupo Experimental	86

<b>6 DISCUSSÃO</b>	103
<b>7 CONCLUSÃO</b>	121
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	123
<b>ANEXOS</b>	139
Anexo 01 - Dados da concentração de fluoreto na água de abastecimento do município de Florianópolis durante o ano de 1995	140
Anexo 02 - Endereços dos voluntários que usaram os aparelhos palatais removíveis	142

## LISTA DE FIGURAS

1 - Fotomicrografia de espécimen polido com aumento de 633 vezes. ....	62
2 - Fotomicrografia de espécimen polido com aumento de 2586 vezes. ....	62
3 - Fotomicrografia de espécimen polido com aumento de 12.934 vezes. ....	63
4 - Fotomicrografia de espécimen polido com aumento de 38.803 vezes. ....	63
5 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 1- com aumento de ..... 246 vezes.	66
6 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 1- com aumento de 38.814 vezes. ....	66
7 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 7- com aumento de 633 vezes. ....	67
8 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 7- com aumento de 633 vezes. ....	67
9 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 7- com aumento de 2.586 vezes. ....	68
10 - Análise espectroscópica do depósito calcificado visto na Fig. 9. ....	69
11 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 7 - com aumento de 12.934 vezes. ....	70
12 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 6 - com aumento de 161 vezes. ....	71
13 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 6 - com aumento de 633 vezes. ....	71

14 - Análise espectroscópica do depósito calcificado visto na Fig. 13. ....	72
15 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 6 - com aumento de 2.586 vezes. ....	73
16 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 8 - com aumento de 633 vezes. ....	75
17 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 8 - com aumento de 2.586 vezes. ....	75
18 - Análise espectroscópica de depósito calcificado visto na Fig. 17. ....	76
19 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 8 - com aumento de 12.934 vezes. ....	77
20 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 8 - com aumento de 12.934 vezes. ....	77
21 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 194 vezes. ....	78
22 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 6.487 vezes. ....	78
23 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 633 vezes. ....	79
24 - Análise espectroscópica de depósito calcificado visto na Fig. 23. ....	80
25 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 2.586 vezes. ....	81
26 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 633 vezes. ....	83

27 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 12.934 vezes.	83
28 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 633 vezes.	84
29 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 2.586 vezes.	85
30 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 12.934 vezes.	85
31 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 2 - com aumento de 633 vezes.	88
32 - Análise espectroscópica de depósito calcificado visto na Fig. 31.	89
33 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 2 - com aumento de 2.586 vezes.	90
34 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 2 - com aumento de 25.862 vezes.	90
35 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 3 - com aumento de 633 vezes.	91
36 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 3 - com aumento de 633 vezes.	91
37 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 3 - com aumento de 25.862 vezes.	92
38 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 3 - com aumento de 25.862 vezes.	92



39 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 5 - com aumento de 633 vezes.	93
40 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 5 - com aumento de 2.586 vezes.	93
41 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 5 - com aumento de 12.934 vezes.	94
42 - Análise espectroscópica do depósito calcificado visto na Fig. 43.	95
43 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 7 - com aumento de 633 vezes.	96
44 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 7 - com aumento de 2.586 vezes.	96
45 - Análise espectroscópica do depósito calcificado visto na Fig. 47.	98
46 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 7 - com aumento de 23.319 vezes.	99
47 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 8 - com aumento de 633 vezes.	100
48 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 8 - com aumento de 2.586 vezes.	100
49 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 8 - com aumento de 12.934 vezes.	101
50 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 8 - com aumento de 38.814 vezes.	101

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi o de avaliar o efeito da remoção regular de placa dental no desenvolvimento *in situ* de lesão cariiosa dentinária em indivíduos residentes numa área com água fluoretada e consumidores de dentifrício fluoretado. Dez participantes (18-23 anos de idade) usaram um aparelho palatal removível de acrílico (APR), com 4 espécimens dentinários (3 mm X 3 mm X 2 mm) protegidos das forças mecânicas, por um período de 4 semanas. Uma solução de sacarose a 50% foi aplicada 4 vezes ao dia em cada espécimen. Em cada APR, a metade da amostra permaneceu intocada durante o período *in situ* (grupo-controle - GC- 10 espécimens), e a outra metade recebeu, semanalmente, profilaxia com pedra pomes e água (grupo experimental-GE- n=10). Após o período *in situ*, os espécimens foram analisados ao microscópio eletrônico de varredura. Também foram analisados 5 espécimens polidos. Os espécimens do GC apresentaram sinais de dissolução superficial, em muitos casos associada com a presença de depósitos calcificados (cálculo dental). No GE, foram observadas microescaras com sinais de desgaste, e também presença de depósitos calcificados em vários casos, impossibilitando uma avaliação mais acurada da superfície dentinária subjacente. Naqueles que permitiram observação direta da superfície, esta mostrou-se semelhante àquela dos espécimens polidos. Em conjunto, os dados mostraram que o GE apresentou uma superfície menos porosa e mais regular do que o GC, sugerindo uma menor desmineralização no GE; não houve, porém, um efeito preventivo em todos os espécimens.

## ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the effect of a weekly plaque removal on *in situ* caries development in dentin in individuals living in a fluoridated area and consuming fluoridated dentifrice. The test panel consisted of 10 volunteers, each one using a palatal removal appliance with two dentin specimens (3 mmX 3mm X 2mm) protected from the mechanical forces by a stainless steel matrix, for a period of 4 weeks. On each specimen, a 50% saccharose solution was applied 4 times a day, and half of the samples remained untouched during the study (control group - CG - n=10), while the other half received a weekly professional prophylaxis with pumice and water for 5 seconds (experimental group - EG - n=10). After the intra-oral period, all the specimens and 5 polished specimens were analysed by scanning electron microscopy. All the controls showed signs of dissolution, in most cases associated with calcified deposits (calculus). The experimental specimens showed microscars with signs of abrasion, and also in many cases associated with calcified deposits which turned the direct observation of the surface impossible. In cases which a direct visualization of the surface was possible, the morphology showed similar to that of the polished specimens. The data showed that the experimental specimens presented a less porous and more regular surface than that of the controls, suggesting a lower degree of dissolution, but not a preventive effect on all specimens.

# **1 INTRODUÇÃO**

A doença cárie foi por muitos anos considerada como uma patologia que levaria, inevitavelmente, à destruição dental, uma vez iniciada. Simultaneamente, vários conceitos foram propostos para explicar a etiologia da doença, desde a abordagem multifatorial (Keyes, 1962), passando pela concepção de infecciosidade (Loesche, 1976) e transmissibilidade (Alaluusua, 1991), até, mais recentemente, a concepção da doença cárie como uma patologia localizada (Thylstrup, 1990). Excluindo esta última concepção, as pesquisas no campo da Cariologia foram, como consequência dos primeiros modelos explicativos, direcionadas para vários fatores que eram considerados como tendo alguma influência no processo da doença. Conjuntamente com uma antiga e ainda persistente confusão com relação ao que realmente significa o termo "cárie dental", o tratamento da doença cárie foi confundido com a implementação de medidas restauradoras operatórias (Mondelli et al, 1984; Baratieri et al., 1993; Guedes-Pinto, 1991), enquanto os procedimentos não operatórios - tais como a administração de métodos de aplicação de fluoretos, o controle da dieta, a aplicação de métodos mecânicos, profissionais de auto aplicação, de controle da placa dental (Axelsson, Lindhe, 1977; Carvalho et al., 1991, 1992; Nyvad, Fejerskov, 1986), e métodos químicos de controle de placa (Embery, Rølla, 1992)- mais freqüentemente são citadas na literatura como procedimentos preventivos. Isto reflete uma concepção ainda persistente de que a "cárie dental" é representada por lesões cariosas cavitárias com necessidade de tratamento operatório.

Um passo muito importante para a saúde bucal foi dado com a definição de doença cárie e de lesão de cárie, que até então não eram diferenciados, sendo referidos como "cárie dental". A doença cárie consiste no processo patológico em si, e a lesão cariiosa consiste nas alterações teciduais (de esmalte, dentina, e cemento) causadas pela primeira (Fejerskov, Thylstrup, 1988). Além disso, atualmente é sabido que a doença cárie é causada por bactérias presentes na placa dental, e não por aquelas presentes no interior do tecido da lesão cariiosa (Von Der Fehr, 1965; Nygaard Östby et al., 1957; Holmen, Thylstrup, 1984; Thylstrup, Fredebo, 1982; Fejerskov, Nyvad, 1992). Entretanto, na literatura odontológica, ainda é bastante freqüente encontrarmos a menção do termo "cárie dental", que, além de não especificar a presença da doença, muitas vezes, principalmente em estudos epidemiológicos, refere-se a lesões cariosas cavitárias.

Uma vez que a doença cárie é representada por eventos bioquímicos que ocorrem na placa bacteriana, os procedimentos não invasivos, classicamente mencionados como preventivos, são, na verdade, os verdadeiros procedimentos terapêuticos da doença cárie. Entretanto, a abordagem não invasiva tem sido caracterizada pelo emprego associado de medidas destinadas a atuar sobre diversos fatores considerados envolvidos no processo da doença (Newbrun, 1992). Tal prática ignora os mecanismos básicos responsáveis pela coexistência de sítios sadios e com lesão cariiosa numa mesma face dental, isto é, não considera o fato de que, anteriormente da implementação do tratamento (administração de métodos de flúor, controle da dieta etc.), já existiam sítios dentais adjacentes em condições de saúde bastante distintas. Neste contexto, é importante ter em mente que a lesão cariiosa não ocorre ao acaso na dentição, isto é, não é passível de se desenvolver, naturalmente, em qualquer sítio de qualquer face de qualquer elemento dental erupcionado. A ocorrência da "cárie dental" segue um padrão em que os dentes posteriores

são mais afetados que os anteriores, as faces proximais são mais afetadas que as superfícies lisas livres, e, em cada face dental, há um sítio específico onde a desmineralização se desenvolverá (Thylstrup, 1990). Assim, numa face vestibular, a desmineralização irá iniciar no terço gengival (Backer Dirks, 1966); numa face proximal, ocorrerá na porção abaixo da área de contato interproximal (Bandlish, 1980; Björndal, Thylstrup, 1995; Thylstrup, 1990); e na face oclusal, o sítio de iniciação será nas fóssulas, cicatrículas e fissuras que não apresentarem contato dental com o dente antagonista (Carvalho et al., 1989; Ekstrand et al., 1993). Além disso, é interessante destacar que tal padrão de distribuição é independente do uso de métodos de aplicação de fluoretos, da classe social, da nacionalidade, do consumo de açúcar, etc. (Thylstrup, 1990). Tais evidências apontam para a existência de um forte fator intra-bucal que controla a distribuição das lesões cariosas na dentição e o fator etiológico da doença cárie (ou os fatores etiológicos).

Neste contexto, deve ser considerado que o desenvolvimento da lesão cariosa, em qualquer tecido dental duro, segue várias fases de dissolução mineral. Thylstrup, Fredebo (1982) foram os primeiros pesquisadores a relatar os estágios ultra-estruturais precoces da lesão cariosa, revelando, então, que lesão cariosa de esmalte designada como lesão de "mancha branca" (Silverstone, 1973) representa, na verdade, um estágio tardio de destruição mineral. Após o estágio ultra-estrutural, segue o estágio visível ao microscópio óptico, o estágio de lesão branca - primeiro estágio visível clinicamente - e o de cavitação.

Estudos com microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando técnicas avançadas, permitiram esclarecer os verdadeiros mecanismos envolvidos na patogênese da doença cárie ao estudar as reações dos tecidos dentais ao nível dos

cristalitos do esmalte (Thylstrup, Fredebo, 1982; Holmen, Thylstrup, 1984; Holmen et al., 1985b; Holmen et al., 1986; Holmen, Thylstrup, Årtun, 1987b; Holmen et al., 1988). De acordo com estes estudos, uma vez a superfície dental, mesmo logo após ter sido exposta na cavidade bucal, não seja abrasionada por forças mecânicas (dos tecidos moles, dos dentes adjacentes e antagonistas, e da escova e do fio dental), criam-se condições favoráveis ao acúmulo de massas bacterianas com potencial cariogênico, causando desmineralização, que se inicia pela erosão da superfície mais externa do tecido dental. Tal processo de desmineralização só cessará caso forças mecânicas venham atuar na superfície dental, impedindo o crescimento da massa bacteriana, quando o processo terá sido inativado. O controle exercido pelas forças mecânicas foi provado ser mais importante do que todos os outros fatores já estudados (ex.: flúor, consumo de carboidratos, consistência da dieta, composição química do esmalte dental etc.). Também foi mostrado, ao nível ultra-estrutural, que a maior parte da superfície dental que apresenta lesão cariiosa ativa no início da irrupção do dente na cavidade bucal - quando as forças mecânicas atuantes são fracas - apresenta-se, no final da irrupção, com lesão cariiosa inativa. Isto ocorre num estágio que não é visível clinicamente. Assim, no sentido mais biológico, o esmalte clinicamente considerado como hígido representa, na verdade, lesão cariiosa inativa (Holmen, Thylstrup, 1984).

Estes estudos mostraram que o mecanismo básico na manutenção da integridade dos tecidos dentais duros, quer estejam quer não com lesão cariiosa, na cavidade bucal, é o mesmo: impedimento do crescimento de massas bacterianas sobre as superfícies dentais através da atrição mecânica. Isto posto, é interessante ressaltar vários relatos na literatura sobre o tratamento não invasivo de lesões cariosas de esmalte (Carvalho et al., 1991, 1992) e até de dentina com cavitação (Anderson, 1938; Nyvad,



Fejerskov, 1986; Maltz et al., 1994, 1995), cujo principal método empregado foi o mesmo: a promoção de maior atrição sobre as lesões cariosas para impedir o acúmulo de depósitos bacterianos.

O entendimento dos processos biológicos responsáveis pela ocorrência de depósitos bacterianos com potencial cariogênico nos sítios dentais é de extrema importância para a implementação de medidas terapêuticas não invasivas no tratamento de lesões cariosa cavitárias, que possibilitam uma amplitude bem maior de possibilidades de tratamento na ausência de recursos tecnológicos avançados, tais como materiais restauradores e aparelhos de alta rotação. Além disso, esse entendimento permite avaliar até que ponto a atrição mecânica, proporcionada pelo profissional ou pelo paciente, pode ser eficaz e efetiva na escolha do tratamento.

O presente estudo consiste na avaliação do efeito da remoção profissional regular de placa dental em fragmentos de dentina humana submetidos a um desafio cariogênico *in situ*. Fragmentos dentinários polidos serão inseridos em aparelhos intra-orais, onde estarão protegidos da ação das forças mecânicas por um período de quatro semanas. A metade dos fragmentos receberá, semanalmente, uma profilaxia profissional, enquanto a outra metade ficará intocada e a morfologia superficial de ambos será avaliada ao microscópio eletrônico de varredura.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

Nossa revisão de literatura será centrada nos efeitos da eliminação total da atrição mecânica intra-bucal (AMI) e nos efeitos da eliminação total ou parcial desta, com sua subsequente restituição sobre os tecidos dentais duros na cavidade bucal.

## **2.1 Eliminação total da AMI**

Nygaard Östby, Mörch, Hals (1957) foram os primeiros pesquisadores a utilizar um modelo *in vivo* da doença cárie, baseado apenas na eliminação completa das forças mecânicas intra-orais sobre as superfícies dentais. Placas metálicas douradas foram cimentadas às faces vestibulares de pré-molares indicados para extração por razões ortodônticas, de modo que um espaço estreito era deixado entre a superfície interna da placa metálica e a superfície dental, para que pudesse ocorrer o acúmulo de placa bacteriana. Os resultados, obtidos com estereomicroscopia, mostraram que, após 4 a 6 semanas, ocorreram vários graus de defeitos, desde manchas brancas até lesões cavitárias, apenas nas áreas sob a placa metálica. Com a mesma metodologia, utilizando microscopia de luz polarizada, esses pesquisadores observaram que a aplicação de solução de fluoreto de sódio ou de fluoreto de estanho (2 aplicações de 5 minutos) provocou menor grau de dissolução mineral, após 4 semanas em contato com a placa bacteriana acumulada, em

comparação com áreas onde as soluções não foram aplicadas. Porém, após 6 semanas, as diferenças entre as duas áreas (a fluoretada e a não fluoretada) eram dificilmente detectadas.

Von Der Fehr (1961) , utilizando o modelo proposto por Nygaard Östby, Mörch, Hals (1957), comparou os efeitos de soluções de fluoreto de estanho, fluoreto estânico e fluoreto de sódio na inibição de desmineralização em elementos dentais humanos (de crianças dos 10 aos 15 anos de idade). Em cada elemento dental, determinou uma área experimental (a que foi aplicada uma solução de flúor por 5 minutos) e outra controle (que não recebeu a aplicação de flúor). Os elementos dentais, após períodos de 3 a 5 semanas de contato com placa bacteriana, foram extraídos, limpos e examinados ao estereomicroscópio; algumas amostras foram observadas com luz polarizada e confirmadas com radiomicrografias.

O grupo do fluoreto de sódio registrou 29% de “inibição de cárie”, mas nenhuma das áreas experimentais mostrou-se intacta. Os valores de inibição para o grupo do fluoreto de estanho e o de fluoreto estânico foram de 25% e 87%, respectivamente; no primeiro, também nenhuma das áreas experimentais mostrou-se intacta, mas no segundo grupo várias áreas experimentais mostraram-se intactas (sem lesão cariiosa). Vale salientar que nem todos os elementos dentais foram avaliados com luz polarizada e com radiomicrografia, de modo que nem todas as observações estereomicroscópicas puderam ser confirmadas por exames mais acurados.

Von Der Fehr (1965) publicou um de seus artigos clássicos, intitulado "Maturação e remineralização do esmalte", onde relatou uma série de estudos realizados sobre lesões cariosas em esmalte. Num dos estudos relatados, foi utilizado o modelo da placa dourada, proposto por Nygaard Östby, Mörch, Hals (1957), para induzir *in vivo*

lesões em áreas de esmalte dental, com a finalidade de observar a influência da remoção da camada superficial na resistência do esmalte à dissolução cariiosa. Assim, abaixo da placa dourada, tinha-se esmalte abrasionado (sem esmalte superficial), constituindo o grupo-teste, e não abrasionado (com esmalte superficial), sendo o grupo-controle. O período de indução de lesões cariosas variou de algumas semanas até alguns meses. Após o período experimental, os dentes foram extraídos e analisados através de radiomicrografia. As áreas teste e controle mostraram desenvolvimento de lesões cariosas, que apresentaram uma camada superficial mais radiopaca que a subsuperfície, porém nas áreas-controle a espessura da camada radiopaca foi maior do que nas áreas-teste.

Posteriormente, Von Der Fehr (1967), empregando o mesmo modelo da placa dourada, avaliou o efeito da aplicação de solução fluoretada na morfologia de lesões produzidas *in vivo*, por períodos de 14 a 73 dias. Os elementos dentais foram pré-tratados com aplicação de flúor (fluoreto de estanho a 10%, por 4 minutos, ou solução de hexafluoroestanoato de sódio, com 0,3 M de flúor, por 5 minutos); abrasão (desgaste superficial); abrasão e aplicação de flúor (*idem* ao primeiro grupo); abrasão e exposição à cavidade bucal por períodos de 7 a 56 dias e nenhum tratamento. Cada face dental foi dividida numa metade-controle (sem nenhum pré-tratamento) e noutra experimental (com um dos tipos de pré-tratamento). Secções das lesões foram examinadas ao microscópio de luz polarizada e através de radiomicrografia. Os resultados mostraram a presença de lesão cariiosa em todas as áreas que não foram tratadas com flúor, e somente em algumas das tratadas com flúor. Entretanto, o autor relata que todas as áreas do grupo de aplicação de flúor/abrasão apresentaram leves sinais de desmineralização. Ainda, todas as lesões produzidas *in vivo* mostraram morfologia semelhante àquela das lesões naturais em outros elementos dentais humanos, diferindo apenas na espessura da camada superficial e na

profundidade da lesão. É importante salientar que, neste estudo, o autor não considerou lesão cariiosa como qualquer desmineralização detectada.

Estimulado por estudos que apontaram para um maior benefício preventivo do hexafluoroestanoato de sódio, em relação ao fluoreto de sódio, ao flúor fosfato acidulado e ao fluoreto estanhoso, Von Der Fehr (1968) testou o efeito inibidor de desmineralização do hexafluoroestanoato de sódio, utilizando o modelo da placa dourada, em crianças (dos 10 aos 14 anos de idade), num período experimental de 19 a 215 dias. Cada face dental foi dividida numa área-controle e noutra experimental (que recebeu a aplicação de flúor antes da colocação da placa dourada). Após a extração, as superfícies dentais foram avaliadas por meio da absorção de isótopo radioativo de fósforo ( $^{32}\text{P}$ ) e pelo sistema de avaliação visual adotado por Von Der Fehr (1961). Usando-se o método visual, a taxa de inibição de desmineralização foi de 53%, enquanto que, pelo método da absorção do isótopo, a taxa foi de 47%.

Em vista dos resultados obtidos com o hexafluoroestanoato de sódio sobre o desenvolvimento de lesões cariosas em esmalte dental, Von Der Fehr (1970) testou, posteriormente, o efeito desta substância sobre desenvolvimento de lesões cariosas em dentina humana, usando o mesmo modelo. Antes da colocação da placa, os sete pré-molares da amostra tiveram sua face vestibular desgastada, de modo a expor uma área de dentina, com 3 a 4 mm de diâmetro. O esmalte abrasionado, circundante da área de dentina, também foi incluído no estudo. As faces dentais foram divididas em duas metades: uma controle e outra experimental (esta recebeu a aplicação da solução de hexafluoroestanoato de sódio por 5 minutos). O período de indução de lesão cariiosa foi de 16 a 20 dias. Após a extração, o esmalte foi examinado no microscópio estereoscópico, usando-se os escores visuais propostos por Von Der Fehr (1961). Posteriormente, foram

preparados cortes finos para análise da dentina em radiomicrografia. Todos os dentes apresentaram lesão cariiosa em dentina, nas áreas controle e experimental. Entretanto as áreas experimentais apresentaram, exceto em um caso, menor profundidade de lesão e maior espessura da camada superficial radiopaca.

Hals, Simonsen (1972), com o objetivo de estudar o desenvolvimento, *in vivo*, de lesões cariosas em volta de restaurações de amálgama, criaram uma nova técnica para a produção de lesões cariosas que consistia na substituição da placa dourada por bandas ortodônticas. As bandas eram adaptadas e fixadas através de cimento dentário nos elementos dentais, de modo a deixar um espaço entre uma face dental e a superfície interna da banda. A amostra consistiu de 31 dentes (9 incisivos, 3 molares, e 19 pré-molares), com restaurações classe V de amálgama. Os participantes variavam de 11 a 62 anos de idade. O período experimental foi de 21 a 180 dias, após o qual os dentes foram extraídos, e secções transversais foram preparadas para análise ao microscópio de luz polarizada e através de radiomicrografia. Com exceção de três casos, que apresentaram problemas com a adaptação da banda ortodôntica, todos apresentaram lesão cariiosa ao redor da restauração de amálgama. As lesões produzidas foram semelhantes, morfologicamente, a lesões cariosas secundárias, adjacentes a restaurações de amálgama, produzidas *in vitro* em estudos prévios.

Arends et al. (1984) utilizaram a mesma técnica para verificar se a formação de lesão subsuperficial era o primeiro estágio no desenvolvimento da lesão cariiosa. Os autores argumentaram que esse pensamento era derivado de estudos que avaliaram lesões com história desconhecida. A técnica da banda ortodôntica foi usada em pré-molares, indicados para extração por razões ortodônticas, por 4 semanas. Em seguida, os dentes foram extraídos e examinados ao MEV e através de radiomicrografia

quantitativa. Os participantes não usaram nenhum tipo de produto fluoretado durante o estudo. Todos os dentes experimentais apresentaram lesão cariiosa ao final do período experimental, e as lesões foram caracterizadas por ausência de camada superficial.

Com o objetivo de estudar o efeito, no esmalte, da eliminação completa das forças mecânicas em relação ao tempo, Holmen et al. (1985a, b), usando a técnica da banda ortodôntica, examinaram pré-molares extraídos após 1, 2, 3, e 4 semanas com proteção contra as forças mecânicas. A amostra consistiu de 12 pré-molares (de três indivíduos), sendo que após cada semana, extraia-se um dente de cada indivíduo. Nenhum dos participantes foi exposto a qualquer regime com flúor durante o experimento. As reações do esmalte foram analisadas macroscopicamente, no microscópio de luz polarizada (MLP) e no MEV, utilizando-se uma técnica que permitiu o estudo do esmalte ao nível dos cristalitos. Macroscopicamente, só se observou aumento da opacidade do esmalte após 2, 3 e 4 semanas sem atrição mecânica. Ao nível do MLP e do MEV, se observou desmineralização já a partir de uma semana sem atrição mecânica, aumentando à medida que aumentava o tempo do experimento. Ao nível do MEV, a perda mineral se mostrou como dissolução dos cristais individuais da superfície externa do esmalte, numa reação consistente, independente da microanatomia original da superfície.

Posteriormente, Holmen et al. (1986), utilizando a mesma técnica, avaliaram o efeito da aplicação prévia de um verniz fluoretado (Duraphat) sobre o desenvolvimento de lesão cariiosa de esmalte. Nove indivíduos, cada um com dois pré-molares a serem extraídos, participaram do estudo. Após 4 semanas com proteção local, um dente em cada indivíduo foi extraído (grupo-controle) e examinado através de MEV e MLP. No outro dente (experimental), retirada a banda, realizou-se uma profilaxia e a aplicação do verniz fluoretado. Em seguida, a banda foi recolocada e deixada por mais 2



semanas. Após este novo período, os dentes foram extraídos e examinados. Todos os dentes-controle apresentaram lesão cariiosa, com as características clássicas de lesão ativa, e os dentes experimentais mostraram grande redução das porosidades subsuperficiais; ocorreu, porém, aumento das porosidades superficiais, indicativo de progressão em relação às lesões do grupo-controle.

Com o objetivo de estudar o desenvolvimento de lesões cariosas de esmalte durante o uso de aparelhos ortodônticos fixos, Øgaard, Rølla, Arends (1988b) usaram a mesma técnica da banda ortodôntica, aplicada em pré-molares, para produzir as lesões cariosas *in vivo*. O período experimental durou 4 semanas. Posteriormente, dentes foram extraídos e examinados através de radiomicrografia e MEV. Todos os dentes apresentaram lesão cariiosa após o período experimental. Os dados de radiomicrografia revelaram desmineralização no esmalte, porém sem uma camada superficial definida. No MEV, verificou-se que as lesões foram caracterizadas por dissolução direta da superfície externa do esmalte e que a desmineralização ocorreu de maneira consistente, em toda a superfície que foi protegida pelas bandas.

Thylstrup et al. (1990) publicaram um estudo em que, usando a técnica da banda ortodôntica, para produzir lesões cariosas em esmalte humano, avaliaram a influência da presença de flúor na água de consumo nas reações do esmalte nas áreas protegidas. Os dentes foram protegidos contra as forças mecânicas por períodos de um, dois, quatro, oito, e catorze dias. Após a extração, foram analisados no MLP e no MEV. Os resultados da MLP mostraram desmineralização apenas nos dentes protegidos por 14 dias; entretanto, no MEV, já após 4 dias de proteção, foi possível detectar desmineralização em metade dos casos. Após 8 e 14 dias com proteção local, todos os casos mostraram dissolução da superfície do esmalte. As observações no MEV também revelaram que em

todos os dentes protegidos por períodos de oito dias em diante havia presença de depósitos calcificados (cálculo dental). Assim, foi mostrado que o flúor, tanto no esmalte como na saliva, foi incapaz de impedir a desmineralização, tendo apenas um efeito retardador da progressão da lesão.

Os dados de análise microbiana da placa presente nos dentes experimentais no momento da extração, publicados separadamente pelo mesmo grupo de autores, revelaram que a maioria das lesões se desenvolveu na ausência de *Streptococcus mutans* e lactobacilos (Boyar et al., 1989).

Petersson et al. (1995) estudaram o efeito do uso de um dentífrício com baixa concentração de flúor no desenvolvimento, *in vivo*, de lesões cariosas de esmalte e na composição microbiana da placa, usando a técnica da banda ortodôntica idealizada por Hals, Simonsen (1972). Antes da extração dos dentes, a placa dental foi coletada para análise microbiana. Após a extração, os dentes foram seccionados, longitudinalmente, e examinados através de espectrometria de massa iônica secundária, para detectarem-se desmineralização e captação de flúor pelo esmalte. Os resultados mostraram que todos os dentes experimentais apresentaram lesão cariiosa, e que os estreptococos mutans não foram identificados em 2 de 9 amostras do grupo experimental (dentífrício fluoretado) e em 3 de 7 amostras do grupo-controle. Apesar da maior captação de flúor pelo esmalte do grupo experimental, não houve diferenças entre os grupos, em relação à espessura da camada superficial e à profundidade de lesão, após 4 semanas.

Os estudos desta primeira parte da revisão mostram que a remoção total da forças mecânicas incidentes sobre a superfície dental leva ao desenvolvimento de lesões cariosas e que isto ocorre: na presença do flúor fornecido por aplicação de: solução tópica (Nygaard Østby, Mörch, Hals, 1957; Von Der Fehr, 1961; Von Der Fehr, 1967; Von Der

Fehr, 1968; Von Der Fehr, 1970), verniz (Holmen et al., 1986), dentifício (Petersson et al., 1995); em dentes (fluoróticos) de indivíduos que nasceram e cresceram em área com água fluoretada (Thylstrup et al., 1990); na ausência de *Streptococcus mutans* (Boyar et al., 1989; Petersson et al., 1995) e lactobacilos (Boyar et al., 1989); independente da exposição prévia ou não do tecido dental ao ambiente bucal (Von Der Fehr, 1965; Von Der Fehr, 1967); afetando toda a superfície de maneira consistente, sem haver dissolução preferencial de nenhuma estrutura da microanatomia da superfície dental (Holmen et al., 1985b; Øgaard, Rølla, Arends, 1988b; Thylstrup et al., 1990). Todos os estudos acima citados comprovaram que o método de eliminação da AMI é bastante eficaz na produção de lesões cariosas em tecidos dentais duros na cavidade bucal.

Na segunda parte da revisão, abordaremos estudos que analisaram a eliminação total ou parcial, por métodos artificiais ou não, da AMI e sua posterior restituição na mesma superfície dental, com o objetivo de obter um conhecimento mais profundo do que realmente ocorre *in vivo*.

## **2.2 Eliminação parcial ou total da AMI com posterior restituição**

Anderson (1938) publicou um estudo, em que relatou os resultados de um tratamento para inativação de lesões cariosas cavitárias ativas, baseado no restabelecimento das funções mastigatórias, nos sítios com lesão, através da remoção do esmalte até o nível da dentina, de modo a deixar a cavidade expansiva. Após a remoção do esmalte, os pacientes foram acompanhados em intervalos regulares por períodos de 6 meses a 3 anos. Todos os casos apresentaram sinais de inativação parcial ou completa das

lesões. Dentre aqueles casos que apresentaram inativação parcial, a persistência de pequenas áreas retentivas foi detectada em sua superfície.

Von Der Fehr (1965), usou a técnica da placa dourada para induzir, *in vivo*, lesões cariosas na superfície de esmalte de dentes destinados à extração. Após o período de indução, as placas douradas foram removidas, foram feitos pequenos desgastes nas superfícies da lesões, e as faces dos dentes experimentais foram expostas ao ambiente bucal por períodos de 2 a 57 dias. Os resultados obtidos macroscopicamente e através de radiomicrografia mostraram que as lesões tinham desaparecido ou diminuído em severidade. Em dentes onde havia lesão, não foi observada a camada superficial nas áreas abrasionadas. Todas as lesões tenderam a se remineralizar, em toda sua espessura, e em alguns dentes, foi observada uma camada altamente mineralizada, nas partes mais profundas da lesão. A redução da desmineralização das lesões, quando expostas ao ambiente bucal, foi denominada pelo autor um processo de remineralização.

Backer Dirks (1966) publicou seu estudo clássico sob o título "Mudanças pós-eruptivas no esmalte dental". A amostra consistiu de 90 crianças (45 meninas e 45 meninos), que foram examinadas desde a idade de 7 à de 15 anos. Foram examinadas as faces oclusais, lisas livres (vestibulares e linguais/palatais), e proximais dos elementos dentais. As superfícies oclusais e lisas livres foram examinadas visualmente, após limpeza e secagem, e as proximais foram examinadas ao exame radiográfico interproximal. Aqui serão relatados apenas os resultados das faces vestibulares dos primeiros molares permanentes, nos quais um exame mais acurado foi realizado. Após a limpeza com um escova dental e a secagem com ar comprimido, durante 3 segundos, o exame visual das faces vestibulares foi realizado com o auxílio de uma sonda exploradora, e os seguintes escores foram dados: "hígido", "cárie branca" (se a superfície mostrasse uma lesão opaca

com ou sem perda parcial de estrutura superficial), e "cavidade cariosa" (se houvesse uma cavidade no esmalte perceptível com o uso da sonda exploradora). A tabela 1 mostra os resultados das superfícies vestibulares dos primeiros molares permanentes desde a idade de 8 à de 15 anos.

Tabela 1 - Resultados das faces vestibulares dos primeiros molares

Escores	8	15	total
hígido	93	74	111
lesão branca	72	37	41
lesão cavitária	19	15	41
		26	
		04	
		09	32
		19	

Backer Dirks, 1966.

Das 72 manchas brancas presentes na idade de 8 anos, apenas 9 progrediram para o estágio de cavitação, 37 foram classificadas como híginas e 26 não mostraram progressão na idade de 15 anos. Os resultados mostraram, ainda, que mudanças de uma superfície com lesão de "mancha branca" para uma situação clinicamente idêntica a uma superfície hígina ocorreram em todas as idades - dos 8 aos 9 anos, dos 10 aos 11 anos, dos 12 aos 13 anos e dos 14 aos 15 anos. O autor atribuiu o desaparecimento das manchas brancas à remineralização ou à abrasão superficial ou a ambas.

Von Der Fehr, Løe, Theilade (1970) desenvolveram um modelo experimental, sem uso de técnicas artificiais, para estudos de cárie experimental em humanos. Doze estudantes de Odontologia, do sexo masculino, foram voluntários para o

estudo. Durante um período pré-experimental, foram estabelecidas condições de saúde gengival. Após serem cuidadosamente limpas e secas, as superfícies dentais receberam os seguintes escores: (0) superfície parece intacta; (1) limitada coloração acinzentada, com ou sem acentuação das periquimatas; (2) periquimatas bem acentuadas, em alguns casos apresentando áreas formando confluente manchas branco-acinzentadas e (3) pronunciada descalcificação branca. O exame foi feito com o auxílio de um microscópio de dissecação binocular, fixado com duas lentes (16x). Todos os participantes suspenderam os procedimentos de higiene bucal durante 23 dias. Seis participantes foram incluídos no grupo da sacarose, o qual realizou 9 bochechos diários com 10 ml de uma solução aquosa de sacarose a 50%, durante dois minutos e entre as refeições. No final do período sem higiene bucal, os dentes foram cuidadosamente limpos e reexaminados, com relação à presença de lesões cáries. Em seguida, a higiene bucal foi reinstituída e os participantes realizaram bochechos diários com um solução de fluoreto de sódio (NaF) a 0,2%. Após um mês, os dentes foram limpos, polidos e outro exame foi realizado. Após mais um mês com higiene bucal e bochechos de flúor, repetiram-se estes últimos procedimentos, terminando o estudo. No final do período sem higiene bucal, o índice médio de cárie aumentou em ambos os grupos, mas o índice do grupo da sacarose foi consideravelmente maior do que o do grupo-controle. Entretanto, a média dos escores do índice de cárie variou dentro da dentição, no início e no final do período sem higiene bucal, quando os primeiros pré-molares inferiores mostraram o maior incremento de cárie, sendo seguidos de perto pelos caninos superiores e pelos incisivos laterais e centrais. No final dos dois períodos com a retomada da higiene bucal e dos bochechos de flúor, o índice médio de cárie retornou aos níveis pré-experimentais, o que foi definido pelos autores como remineralização. É

importante considerar a influência dos polimentos realizados após cada período experimental.

Jenkins, Geddes, Cooke (1973) repetiram, de maneira idêntica, o experimento de Von Der Fehr, Løe, Theilade (1970); porém os resultados mostraram que os grupos com e sem bochechos de sacarose apresentaram o mesmo incremento de lesões cariosas, no final do período sem higiene bucal. Ambos os grupos mostraram redução dos índices de lesão cariosa, após os dois meses de retomada da higiene bucal.

Geddes et al. (1978) repetiram o estudo de Von Der Fehr, Løe, Theilade (1970), em virtude dos resultados conflitantes entre os resultados deste último e o estudo de Jenkins, Geddes, Cooke (1973). No final do período sem higiene bucal, o aumento no índice de cárie do grupo experimental foi consideravelmente maior do que o do grupo-controle, corroborando os achados de Von Der Fehr et al. (1970). Porém, um indivíduo do grupo-controle mostrou um aumento no índice de cárie semelhante à média do grupo experimental. Após o período de retomada da higiene bucal, o índice de cárie do grupo com bochecho de sacarose (experimental) voltou aos valores pré-experimentais, mas no grupo sem bochecho de sacarose (controle) não houve alteração.

Thylstrup, Fredebo (1982), num estudo com MEV, analisaram as características superficiais do esmalte dental, de dentes humanos permanentes, antes e após a remoção das coberturas orgânicas presentes previamente à extração. Foram incluídos três grupos: um com dentes parcialmente erupcionados, um com dentes próximos à irrupção completa, e um com dentes totalmente irrompidos. No primeiro grupo, foram analisadas três áreas: área não irrompida, área intermediária (entre a porção não irrompida e a irrompida) e a área irrompida, oclusalmente localizada. Os resultados mostraram a ocorrência de defeitos estruturais no esmalte não irrompido, tais como orifícios dos

processos de Tomes, orifícios focais e capacetes do esmalte, caracterizando o esmalte não irrompido como um sólido poroso. O esmalte das outras áreas, onde havia depósito espesso de placa dental, mostrou sinais de dissolução mineral, principalmente no terço gengival, num estágio prévio ao de lesão de mancha branca. Estas áreas eram caracterizadas por acentuação dos orifícios dos processos de Tomes e dos buracos focais, porém com um envolvimento de toda a superfície na desmineralização. Para os dentes próximos à irrupção total, apenas o terço gengival apresentava placa dental espessa, onde foram detectados sinais de dissolução mineral envolvendo toda a superfície, enquanto que nas áreas mais oclusalmente localizadas, foram detectados sinais de desgaste e ausência de dissolução mineral. Quanto aos dentes totalmente irrompidos, que apresentavam contato dental interproximal, sinais de dissolução mineral só foram vistos em áreas localizadas gengivalmente ao ponto de contato proximal, onde havia placa dental espessa, sendo as demais áreas oclusalmente localizadas caracterizadas por sinais de desgaste. Este estudo mostrou que a dissolução cariiosa inicia-se onde há condições favoráveis ao acúmulo de depósitos bacterianos sobre as superfícies dentais. Mostrou, também, que tal dissolução ocorre em toda a superfície do esmalte, não sendo potencializada pela ocorrência de defeitos estruturais. Ainda, as áreas livres de dissolução são caracterizadas por sinais de desgaste, conseqüente da atrição mecânica, a qual impede a formação de depósitos bacterianos com potencial cariogênico.

Posteriormente, Holmen, Thylstrup (1984) realizaram um estudo semelhante ao que fizeram os autores acima citados. Fizeram-no em superfícies oclusais de dentes humanos em diferentes estágios de irrupção, e desenvolveram uma nova técnica de MEV de alta resolução.



Neste estudo, também foram incluídos três grupos: um com dentes não irrompidos, outro com dentes parcialmente irrompidos e outro com dentes com irrupção completa. Os resultados do grupo de dentes não irrompidos confirmaram achados prévios de Thylstrup, Fredebo (1982), revelando, ainda, que o esmalte dental, logo antes da irrupção, apresenta-se como uma superfície formada por cristais uniformes, separados por uma fina rede de espaços intercrystalinos, caracterizando-o como um sólido poroso. Quanto aos dentes em erupção, as áreas cobertas por acúmulos bacterianos mostraram-se, inicialmente, macroscopicamente híidas, a não ser por manchas brancas opacas localizadas na entrada das fissuras; entretanto, no MEV, foram invariavelmente detectados, em toda a face oclusal, sinais de dissolução mineral, que, ao nível cristalino, eram caracterizados por aumento no espaçamento entre os cristais individuais, atingindo uniformemente toda a área, sem perda preferencial de mineral em nenhum local, isto é, independente da microanatomia original da superfície. Entretanto, as áreas dos orifícios focais e as aberturas dos processos de Tomes pareciam, em menor aumento, ter sofrido maior perda mineral. Este fato era devido ao arranjo dos cristais previamente à irrupção, quando se encontravam menos densamente agrupados. As observações em maior aumento (de 40.000 a 60.000 vezes) mostraram que estas áreas eram afetadas em grau semelhante às circunvizinhas.

Quanto aos dentes totalmente irrompidos, os acúmulos bacterianos estavam localizadas nas entradas das fissuras. Neste grupo, os autores dividiram a face oclusal em três regiões: (1) a região localizada abaixo do acúmulo de placa dental; (2) a região intermediária entre a região (1) e as regiões cuspídeas livres de placa, que consistiam na terceira região. A primeira região foi caracterizada pela dissolução mineral e pelo surgimento de microcavidades, com aumento dos espaços intercrystalinos. As demais

regiões apresentaram sinais óbvios de desgaste e microcavidades; nestas áreas, porém, os espaços intercristalinos eram consideravelmente menores e a superfície se apresentava lustrosa (em menor aumento), caracterizando-as como lesões cárias inativas. Macroscopicamente, estas últimas áreas foram diagnosticadas como híginas, o que, no MEV, correspondeu a áreas de lesão cária inativa.

Årtun, Thylstrup (1986) publicaram um estudo sobre alterações em lesões cárias ativas de esmalte (produzidas naturalmente e localizadas gengivalmente a *brackets*) em pacientes que tinham estado sob tratamento ortodôntico por dois anos. A amostra consistiu em seis crianças, que foram examinadas logo após a remoção dos *brackets*, e após 1, 2, 3, 4, 8 e 12 semanas. Após 3 anos, foi feito outro exame, cujos resultados foram publicados separadamente (Årtun, Thylstrup, 1989). Apenas as faces vestibulares dos dentes incisivos superiores foram examinadas, seguindo-se as seguintes etapas: (1) exame clínico da quantidade e da distribuição de placa dental (não foi usado nenhum índice de placa); (2) exame da opacidade e da extensão da lesão de esmalte, após a profilaxia da superfície; (3) duas fotografias de cada superfície dental em cada exame, uma após a limpeza da superfície e outra após a secagem desta com ar seco por 20 segundos; (4) obtenção de dois moldes para cada superfície em cada exame, sendo um molde obtido com a placa dental sobre a superfície e outro obtido após a remoção da placa e a limpeza da superfície com uma solução de hipoclorito de sódio a 5% por 30 segundos. As moldagens foram feitas com silicona e os moldes obtidos, com resina epóxica, foram, posteriormente, examinados no MEV. No momento da remoção do *bracket*, uma incisura foi criada, com um instrumento afiado, na área onde o *bracket* estava inserido para se ter uma referência durante as observações no MEV. Logo após a remoção dos *brackets*, se observou, clinicamente, na área gengival da face dental presença de placa dental espessa

sobreposta a lesões cariosas ativas de esmalte. No MEV, as lesões mostraram microcavidades indicando fraturas localizadas na superfície externa. De 2 a 8 semanas após a remoção dos brackets, observou-se, clinicamente, uma mudança na textura e na aparência clínica das lesões, que consistiu num retorno à dureza do esmalte hígido adjacente (verificado através de leve sondagem) e na aquisição de uma aparência mais brilhosa com opacidade mais difusa (indicando lesão cariosa inativa). No MEV, as alterações nas lesões foram vistas como desgaste do esmalte, ocorrendo de maneira mais intensa na área mais porosa correspondente à lesão, o que tornou o limite entre esta e o esmalte hígido mais nítido.

Após 3 anos (Årtun, Thylstrup, 1989), foram observados, clinicamente, apenas remanescentes da opacidade do esmalte. Ao MEV, observou-se um marcado degrau entre a área da lesão e o esmalte hígido, decorrente de um maior grau de abrasão na área da lesão. As microcavidades desenvolvidas na lesão haviam diminuído ou estavam levemente presentes.

Holmen, Thylstrup, Årtun (1987a, b) realizaram um estudo, utilizando o modelo idealizado por Hals, Simonsen (1972), em pré-molares destinados a extração por razões ortodônticas. O período experimental para formação de lesão cariosa foi de 4 semanas. No final deste período, as bandas ortodônticas foram removidas de todos os dentes, que foram divididos em quatro grupos, de acordo com o momento de sua extração, quais sejam: um grupo de dentes que foram extraídos logo após a remoção das bandas; e os outros grupos foram formados por dentes que foram extraídos 1, 2, 3 e 4 semanas após a remoção das bandas. Cada dente foi examinado clinicamente, no MLP e no MEV. Quando da remoção das bandas, todos os dentes apresentaram placa dental espessa, gengivite marginal, e lesão cariosa ativa de esmalte. Os resultados mostraram que a ação dos tecidos

moles bucais e a higienização habitual dos indivíduos resultaram, com o tempo, na redução do acúmulo de placa e na inativação das lesões cariosas de esmalte. Tal inativação foi conseguida sem a ação do flúor, o qual foi eliminado do dentifrício usado pelos participantes (moradores de área sem água fluoretada) e não foi aplicado sob nenhum tipo de produto fluoretado. No MLP, a inativação das lesões cariosas foi acompanhada, inicialmente, por um aumento das porosidades da camada superficial, que se reduziu posteriormente, e por uma precipitação de minerais nas partes profundas da lesão. Os resultados da microscopia eletrônica revelaram que a menor porosidade e o aumento do brilho da superfície das lesões inativas eram conseqüentes da remoção, por abrasão, dos cristais amolecidos das camadas mais superficiais, com exposição das partes internas mais compactas, o que dava a impressão clínica de significativa redeposição mineral.

Com o objetivo de examinar o efeito da remoção/distúrbio regular da placa dental, Holmen et al. (1988) usaram o modelo descrito acima numa amostra de 15 crianças sob tratamento ortodôntico. Em cada participante, dois pré-molares homólogos foram bandados por 5 semanas. Um dente em cada par serviu como controle e teve a banda cimentada durante todo o período de 5 semanas. A outra banda foi removida, semanalmente, e a superfície vestibular foi limpa, ou com uma profilaxia com uma pasta sem flúor, ou com uma simples limpeza com uma pelota de algodão, por 5 segundos. Assim como nos estudos prévios, nenhuma forma de flúor foi adicionada durante todo o período-teste. Os dentes foram examinados macroscopicamente e através de microscopia de luz polarizada e do MEV. Clinicamente, o esmalte dos dentes do grupo-controle apresentou desde uma leve acentuação nas projeções das periquimatas até pronunciadas lesões brancas opacas. Em contraste, todos os dentes experimentais pareciam clinicamente hígidos. O exame das lesões-controle em luz polarizada mostrou clássicas lesões de

subsuperfície em diferentes estágios de progressão, ao passo que nenhuma dissolução subsuperficial pareceu ocorrer em nenhum dos dentes experimentais, independente do procedimento de limpeza. Exame dos controles no MEV mostrou sinais de dissolução cariiosa ativa (com variações individuais na taxa de progressão) como fora previamente descrito, enquanto que as superfícies limpas, com a pasta ou com o algodão, foram dominadas por uma lisura generalizada das irregularidades, juntamente com várias micro-escaras. Entretanto, um exame, de alta resolução, das áreas limpas semanalmente revelou dissolução inicial da porção mais externa do esmalte, independente do tipo de limpeza.

Num estudo sobre a relação entre atrição oclusal, presença de lesão cariiosa e presença de cálculo em fissuras de dentes posteriores, Thylstrup et al. (1989) analisaram dentes com diferentes graus de desgaste da superfície oclusal (grupo I) e dentes sem ou com pequenos sinais de desgaste oclusal e com diferentes graus de destruição cariiosa (grupo II), através do estereomicroscópio e do MLP. No grupo I, nenhuma face oclusal mostrou-se totalmente livre de placa dental, a qual se concentrava nos remanescentes das fósulas e das fissuras. Estas últimas se apresentaram, na maioria dos cortes, preenchidas por depósitos calcificados. Não foram observados sinais de lesão cariiosa oclusal em nenhum destes dentes. Nas faces proximais, a observação mais comum foram os sinais de desgaste proximal juntamente com lesões cariosas inativas. No grupo II, foram detectados vários graus de lesão cariiosa nas faces proximais e oclusais, sendo a maioria das lesões classificadas como ativas. Neste grupo, as indicações de desgaste proximal foram menos evidentes do que no grupo I. As lesões cariosas oclusais incipientes, mas clinicamente visíveis, sempre apareciam como fenômenos localizados, com sua localização, no mesmo tipo de molar, correspondendo a áreas específicas da macromorfologia oclusal. Em nenhum dente foi observado um ataque difuso da face oclusal. Embora as faces oclusais

tenham apresentado placa dental cobrindo grande parte de sua superfície, as lesões cariosas só foram observadas em áreas onde se encontraram os acúmulos mais espessos e mais corados de placa dental.

Carvalho, Ekstrand, Thylstrup (1989), num estudo com molares permanentes em diferentes estágios de erupção, avaliaram a relação entre a presença e o tipo de lesão cariosa coronal (ativa ou inativa), a presença de placa dental (fina ou espessa) e a presença de contato oclusal nas superfícies oclusais desses dentes. As lesões cariosas foram diagnosticadas visualmente, após a limpeza e a secagem da superfície, sendo classificadas como ativas ou não, de acordo com a opacidade e a coloração. A placa dental também foi diagnosticada visualmente, sendo classificada em placa fina (só detectada com o auxílio de solução evidenciadora) ou espessa (detectada sem o auxílio de solução evidenciadora). Os resultados mostraram que a ocorrência de acúmulo de placa (placa espessa), assim como de lesões cariosas ativas, na face oclusal destes dentes, reduzia à medida que estes alcançavam o nível oclusal e apresentavam contatos oclusais com o antagonista, quando, então, havia uma maior predominância de placa dental fina e de lesões cariosas inativas ou superfície hígida. Os dentes parcialmente erupcionados apresentaram, em relação àqueles totalmente erupcionados, maior frequência de placa dental espessa e de lesões cariosas ativas, ambas intimamente relacionadas em sítios específicos.

Ekstrand et al. (1993) repetiram a mesma metodologia de Carvalho, Ekstrand, Thylstrup (1989), com pequenas modificações, avaliando primeiros molares permanentes totalmente erupcionados e em diferentes tipos de intercuspidação com o antagonista. Durante o estudo, os setenta e dois participantes cessaram a higiene bucal por 48 horas. Os exames de placa dental foram feitos antes e após este período. O exame do

esmalte foi realizado após profilaxia profissional, antes do período sem higiene bucal. Os resultados mostraram que a presença de placa dental espessa estava intimamente relacionada com a presença de lesão cariiosa ativa de esmalte. Ambas estavam associadas a locais sem contato oclusal. Isto é, onde havia abrasão por intercuspidação, havia predominância de placa dental fina e de esmalte hígido ou de lesão cariiosa inativa.

Os estudos desta seção adicionaram as mais claras evidências de que, quando a AMI é fraca ou nula num dado sítio dental, quer seja devido: (1) a procedimentos artificiais - como a instalação da placa dourada (Von Der Fehr, 1965) ou da banda ortodôntica (Holmen, Thylstrup, Årtun, 1987a, b; Holmen et al., 1988), ou colagem de brackets ortodônticos (Årtun, Thylstrup, 1986, 1989); ou (2) a eventos naturais - como a condição infra-oclusal de dentes em erupção (Backer Dirks, 1966; Thylstrup, Fredebo, 1982; Holmen, Thylstrup, 1984; Carvalho, Ekstrand, Thylstrup, 1989), o interrompimento da higiene bucal (Von Der Fehr, Løe, Theilade, 1970; Jenkins, Geddes, Cooke, 1973; Geddes et al., 1978), os diferentes graus de AMI atuantes nas faces oclusais de dentes totalmente irrompidos (Thylstrup et al., 1989; Ekstrand et al., 1993) e as cavidades retentivas formadas pelo processo cariioso (Anderson, 1938) - surgem condições favoráveis ao crescimento de massas bacterianas com potencial cariogênico. Estas últimas, promovem a dissolução dos tecidos dentais duros, em locais onde as lesões naturais de cárie dental se desenvolvem. Ainda, os estudos também comprovaram que a posterior ação das forças mecânicas causa a inativação das lesões cariosas, com o desaparecimento clínico total ou parcial das lesões incipientes, independentemente de vários outros fatores individuais e sociais que alteram a progressão das lesões cariosas. A implementação das forças mecânicas, em intervalos regulares de uma semana, também se mostrou eficaz para impedir o desenvolvimento de desmineralização num ambiente cariogênico (Holmen et al.,

1988). Desta forma, as forças mecânicas atuantes sobre as superfícies dentais são o principal fator responsável pela manutenção da integridade dos tecidos dentais duros na cavidade bucal. Essa assertiva é um ponto básico em que se apoia nosso estudo.

Os estudos mais recentes, realizados com técnicas avançadas de microscopia eletrônica de varredura e MLP, revelaram que as lesões inativas não são consequência de remineralização (como um preenchimento das porosidades por deposição mineral), mas sim são consequência principal da remoção mecânica da placa cariogênica e das porções superficiais mais amolecidas das lesões, com exposição das partes internas mais compactas. A deposição mineral ocorre de maneira moderada nas porções internas da lesão. Então, estas lesões não podem ser consideradas como lesões remineralizadas, como foi referido por Von Der Fehr (1965), Backer Dirks (1966), Von Der Fehr (1970), e Geddes et al. (1978).

Seguindo a mesma linha de raciocínio, o pesquisador também partiu do conceito de que os fluoretos não possuem um efeito verdadeiramente preventivo das lesões cáries, mas sim um efeito de diminuição da velocidade de progressão destas últimas, como foi evidenciado por estudos citados na primeira parte da revisão.

Partindo destes conceitos básicos, e em virtude da grande parcela da população brasileira exposta a algum tipo de produto fluoretado, principalmente dentífrico, é importante que os estudos na área da Cariologia considerem a presença dos fluoretos como um fato natural no ambiente bucal, a qual modificou o padrão de progressão das lesões cáries nas sociedades industrializadas ocidentais. Considerando este novo padrão de progressão, o papel primordial das forças mecânicas (grandemente influenciadas pelos procedimentos de higiene bucal) na manutenção da integridade dos tecidos dentais duros na cavidade bucal, e a importância de se poder tratar, de maneira não



operatória, lesões cariosas dentinárias, decidiu-se avaliar o efeito da remoção regular de placa dental sobre o desenvolvimento de lesões cariosas dentinárias, na presença de flúor, o que, Pelo conhecimento dos pesquisadores, ainda não foi estudado. Para tanto, por razões de viabilidade prática, não será usado um modelo *in vivo*, mas sim um modelo *in situ*.

## **3 PROPOSIÇÃO**

O presente estudo foi realizado com a dupla finalidade de: 1) a de avaliar a ultra-estrutura da superfície dentinária que foi exposta a um desafio cariogênico (artificialmente criado) e sofreu limpeza mecânica, em intervalos regulares de uma semana, durante o período experimental; 2) a de compará-la à ultra-estrutura da superfície dentinária que foi exposta ao desafio cariogênico e não recebeu limpeza mecânica durante o período experimental, ambas presentes num ambiente bucal de indivíduos que residem em área com água fluoretada e consomem dentifrício fluoretado.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Neste experimento, espécimens dentinários foram fixados em aparelhos palatais de acrílico, que foram usados por dez voluntários, num período de quatro semanas. Cada aparelho continha quatro espécimens fixados, sendo dois pertencentes ao grupo-controle, e dois ao grupo experimental. Todos os espécimens foram protegidos das forças mecânicas intra-orais através de uma tira de matriz metálica. Os espécimens do grupo experimental receberam remoção semanal de placa dental, enquanto que os espécimens do grupo-controle não receberam nenhum tratamento durante o período *in situ*.

A metodologia utilizada será descrita em partes, de acordo com a cronologia dos procedimentos.

#### **4.1 Preparação dos espécimens**

Elementos dentais molares permanentes e pré-molares hígidos foram selecionados para a obtenção dos espécimens dentinários. Inicialmente, cada elemento dental teve suas raízes incluídas em blocos de resina de poliuretano, com a finalidade de permitir um manuseio adequado dos mesmos, durante os procedimentos de desgaste, de polimento e de corte. A resina de poliuretano foi escolhida por apresentar um desgaste

adequado sob a ação das lixas d'água, sem ocorrência de desprendimento e adesão de partículas grandes.

Os elementos dentais, com suas raízes imersas nos blocos de resina, foram, submetidos a um processo de desgaste manual do esmalte dental, realizado sobre discos circulares contendo lixas d'água, giradas sob constante irrigação e a uma velocidade uniforme.

Os espécimens dentinários foram obtidos a partir das superfícies vestibulares e linguais/palatais dos elementos dentais. Para tanto, o esmalte dental das faces vestibular, lingual/palatal, mesial, distal e oclusal foi desgastado, utilizando-se, inicialmente, uma lixa d'água (3M Co.) nº 150. Após todo o esmalte ter sido desgastado, uma outra lixa, de nº 600 (3M Co.) foi usada como primeiro passo do processo de polimento. Esta última lixa foi usada até que se pudesse observar a remoção dos riscos criados pela lixa previamente usada no espécimen. Em seguida, cada elemento dental foi lavado em água corrente por alguns segundos, e levado para a segunda parte do polimento, que foi feito com o uso de partículas de alumina de 1 micrômetro de diâmetro. Uma solução contendo tais partículas foi dispensada sobre um disco de feltro giratório, sobre o qual a dentina das faces vestibular e lingual/palatal do elemento dental foi polida. O ponto ideal do polimento era determinado pela remoção dos riscos criados durante os procedimentos de lixamento. Para que tal evento pudesse ser observado, as faces do elemento dental eram limpas com algodão, e, em seguida, era feito o controle visual do polimento.

Estando com suas faces vestibular e lingual/palatal polidas, o elemento dental foi, então, submetido ao procedimento de corte, para a obtenção dos espécimens dentinários. Os cortes foram realizados com um aparelho microfatiador (Modelo 650,

South Bay Technology Inc.), provido de um disco de diamante (Diamond Wheel - P/N; DWL4121 - 4" X 0.012" Couse/ Low concentration; South Bay Technology Inc.), sendo girado com velocidade lenta e sob constante irrigação com água. Com este aparelho microfatiador foram obtidos espécimens com as seguintes dimensões: 3 milímetros de largura, 3 milímetros de altura, e 2 milímetros de espessura. Estas dimensões foram determinadas com o fim de possibilitar um posicionamento adequado dos espécimens no aparelho palatal de acrílico.

Após a obtenção dos espécimens, estes foram mantidos em solução de formol a 4% por períodos que variaram de uma a três semanas. Este período variou de acordo com o agendamento dos voluntários para usarem os aparelhos palatais de acrílico.

#### **4.2 Voluntários**

Dez voluntários foram selecionados para usar o aparelho palatal com os espécimens dentinários. Estes voluntários foram selecionados de acordo com os seguintes critérios:

- a) ter entre 16 e 25 anos de idade;
- b) residir num bairro cuja água de abastecimento seja fluoretada, de acordo com dados de fluoretação das águas de abastecimento de Florianópolis, correspondentes aos meses de janeiro e setembro de 1995, fornecidos pelo Laboratório de Vigilância Sanitária de Flúor da Faculdade de Odontologia da Universidade do Vale do Itajaí (ver anexo 01). Os dados sobre as ruas e os bairros onde moravam os voluntários podem ser encontrados no anexo 02;

- c) apresentar dentes posteriores superiores hígidos ou com restaurações adequadas e sem problemas pulpares e/ ou periodontais, para que o uso do aparelho palatal de acrílico não fosse prejudicado, ou viesse a causar danos;
- d) apresentar fluxo salivar normal de acordo com as especificações do teste aplicado (Caritest, ERBO, Brasil) - mínimo de 1 ml de saliva (estimulada) por minuto;
- e) estar em bom estado de saúde geral e não estar tomando nenhuma medicação antibiótica durante o período de estudo.

Todos os voluntários selecionados usavam dentifrício fluoretado (com concentrações entre 1000 e 1500 ppm de flúor) e tinham idade entre 18 e 23 anos. Cada voluntário se submeteu a uma série de atividades, que serão a seguir descritas. Inicialmente, foi realizada a moldagem do arco superior com alginato, e obtenção do modelo de trabalho com gesso pedra. Em seguida, cada voluntário foi agendado para a instalação do aparelho palatal removível (APR).

Os voluntários foram identificados com a letra “V” seguida de uma numeração, que variou de 1 a 10 (ex.: V1, V2), correspondente ao número de voluntários.

### **4.3 Confeccção do Aparelho Palatal Removível (APR)**

A confeccção do APR, que consistiu numa modificação do aparelho palatal proposto por Ögaard, Rölla, Arends (1988a), seguiu os seguintes passos:

Inicialmente, os espécimens, dois a dois, foram parcialmente imersos num bloco retangular (2 mm de espessura) de resina composta (Adaptic; Johnsson & Johnsson). A resina composta foi adaptada aos espécimens de modo que apenas a face polida do espécimen ficou livre. Antes de a resina se polimerizar, as extremidades de uma porção de



tira de matriz de aço (Fava Metalúrgica) eram imersas nas extremidades menores do bloco de resina. Esta porção de tira de matriz apresentava uma parte central curvada, de modo que a parte côncava ficava voltada para os espécimens. Após a resina ter se polimerizado, as superfícies polidas dos espécimens dentinários estavam entre o bloco de resina composta e a porção de matriz metálica, de modo que um espaço de 1 a 2 mm era mantido (entre os espécimens e a matriz) para permitir o acúmulo de placa dental. Cada APR continha quatro espécimens, separados em dois conjuntos. Quando da acrilização do APR, dois conjuntos de espécimens foram imersos na resina acrílica, ainda não totalmente polimerizada, sendo cada conjunto localizado em um dos lados do palato, na altura dos primeiros molares permanentes. O APR se estendia da distal dos primeiros molares permanentes até a superfície mesial dos primeiros pré-molares. Após a polimerização da resina acrílica, os APRs foram para a fase de acabamento, com fresa de ponta montada, e de polimento, com lixa d'água (3M) nº 600 e com branco de Espanha.

#### **4.4 Procedimentos Clínicos**

Quando da instalação do APR, as seguintes instruções foram dadas ao voluntário:

- a) o APR deve ser usado pelo maior período de tempo possível, inclusive durante o sono, sendo permitido removê-lo durante as refeições e os procedimentos de higiene bucal;
- b) o APR pode ser higienizado, atingindo apenas os seus grampos e a porção de acrílico, sem o uso de dentífrício. Não se deve limpar os espécimens dentinários localizados abaixo da tira de matriz;

c) uma solução de sacarose a 50% deve ser aplicada quatro vezes ao dia sobre os espécimens dentinários. Para tanto, cada voluntário foi suprido com um recipiente, disposto com uma tampa conta-gotas, contendo 50 ml da solução. Durante cada aplicação, duas gotas devem ser aplicadas no espaço entre a tira de matriz e os espécimens. A aplicação deve ser feita após o café-da-manhã, o almoço, o jantar e antes de deitar-se.

O período *in situ* foi de quatro semanas, de acordo com o período originalmente estudado por Ögaard, Rølla, Arends (1988a). Semanalmente, num dia específico para cada voluntário, foi realizada uma remoção de placa dental num dos grupos de espécimens (grupo experimental). Os outros dois espécimens não receberam nenhum tipo de limpeza durante o período *in situ*, fazendo parte do grupo-controle. Para a realização da profilaxia, uma das extremidades da porção de matriz de aço que cobria o grupo experimental era desinserida da porção resinosa do APR, com o uso de uma fresa de ponta montada acoplada a um micromotor de baixa rotação. Tal procedimento permitia a visualização dos espécimens dentinários, bem como da placa dental formada sobre estes. Neste momento, a placa dental presente foi registrada de acordo com os seguintes escores: (0) ausência de placa dental; (1) presença de placa dental só detectada com o uso de corante; (2) placa dental visível sem o uso de corante; e (3) placa dental espessa, prontamente visível. Para análise dos escores obtidos em cada indivíduo durante o período experimental, e também entre todos os indivíduos em cada semana, foi usado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Após o registro da placa dental, seguiu-se a sua remoção. Esta foi realizada com escova tipo Robinson, ajustada a uma peça de contra-ângulo, e com uma pasta de pedra-pomes e água. Cada espécimen foi limpo por 5 segundos, de acordo com tempo de limpeza utilizado por Holmen et al.(1988). Em seguida, a porção de placa bacteriana

aderida à superfície côncava da porção de matriz também foi removida. Concluída a limpeza do grupo experimental, a extremidade livre da porção de matriz metálica foi reinserta à porção resinosa do APR através de resina composta fotoativada (Durafill). O registro e a remoção de placa dental levaram cerca de 10 a 15 minutos para ser concluídos. O APR era, então, devolvido para o voluntário.

A última remoção de placa dental no grupo experimental sempre coincidia com o final do período *in situ*, quando, então, cessava a participação dos voluntários. Após esta última limpeza, os espécimens dentinários foram removidos do APR, com o uso de fresa de ponta montada, e acondicionados em solução de formol a 4%. Este acondicionamento foi feito em pequenos potes plásticos, separadamente para cada grupo (experimental e controle) e para cada voluntário. Em seguida, com o objetivo de remover as coberturas orgânicas (placa dental e película salivar) cada espécimen foi sonificado por 3 h numa solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, renovada a cada 30 minutos, e em seguida por mais 3 h numa solução de água destilada, também renovada com a mesma frequência. Para esta limpeza, foi utilizado um aparelho sonicador Thornton. No final, os espécimens foram acondicionados em água destilada.

#### **4.5 Preparo para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Cada espécimen passou, inicialmente, por um processo de desidratação, a qual consistiu em 4 banhos consecutivos com soluções de álcool em diferentes concentrações. Cada banho teve a duração de 10 minutos, obedecendo a seguinte seqüência: álcool a 70%, álcool a 90% e dois banhos com álcool absoluto. A desidratação a ponto crítico foi realizada com um aparelho Balzers Critical Point Dryer 010 (usando-se

dióxido de carbono líquido). Em seguida, as amostras foram fixadas em “stubs” metálicos e metalizadas com uma camada de ouro num aparelho Balzers-Union SCD 030, utilizando-se os seguintes parâmetros: 30 mm de distância entre a placa metalizadora e as amostras; 30 mA e um tempo de 108 segundos. De acordo com estes parâmetros, a camada de ouro obtida é de 30 nm. Após a metalização, as amostras foram acondicionadas num dissecador, com vácuo, até o momento da observação no MEV.

As amostras foram analisadas num aparelho Philips XL30.

#### **4.6 Análise em Espectroscopia de Dispersão de Energia (EDE)**

Este método foi usado para analisar depósitos sólidos na superfície dos espécimens, previamente observada em MEV, para determinação de sua possível composição química elemental.

Os espécimens foram submetidos a uma micro-sonda de raios-X Edax, acoplada a um microscópio eletrônico de varredura (XL 30 Philips), do Departamento de Materiais, da Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina, para análise química qualitativa e semi-quantitativa deste depósito sólido.

A microanálise por raios-X é feita pela emissão de elétrons que passam através de uma fina camada de amostra, de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  de espessura. Os átomos desta amostra liberam raios-X característicos do seu número atômico. Desta forma, o detector pode identificar e quantificar os elementos presentes, emitindo um Espectrograma com picos característicos de cada elemento componente da amostra e sua quantificação em peso % da composição desta camada do espécimen (Goldstein et al., 1977).

## **5 RESULTADOS**

## 5.1 Observações da placa dental

Na tabela 2, têm-se os escores de placa dental dos espécimens do grupo experimental (GE), aplicados para cada indivíduo, em cada seção de profilaxia, e dos espécimens do grupo-controle (GC), aplicados ao final do período experimental. No GE, nenhum espécimen apresentou ausência de placa dental em nenhum momento do exame. Escore 1 foi aplicado em quatro ocasiões no GE: duas no V5 (voluntário 5), uma no V9 e outra no V7. Na maioria das vezes foi observada placa dental visível, representada pelos escores 2 e 3. Quatro voluntários apresentaram escores constantes nos espécimens experimentais durante todo o período *in situ*, sendo eles o V1, V2, V3 e o V6.

No GC, foi detectada placa dental visível em todos os casos, após o período *in situ*. Cinco casos mostraram formação de placa dental espessa (escore 3) e os outros cinco mostraram formação de placa dental visível (escore 2).

Aplicando a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis, com um qui quadrado ( $\chi^2$ ) corrigido de 0,5611, obteve-se uma significância de 0,3499, com  $p > 0,05$ . Assim, a análise estatística não rejeitou a hipótese nula de que as médias dos escores de placa dental do grupo experimental para cada indivíduo, durante as quatro semanas, e para cada semana, entre todos os indivíduos, são iguais, indicando que as diferenças não são significantes.

Tabela 2 - Escores semanais de placa dental no grupo experimental e os escores finais de placa dental no grupo-controle.

Voluntário	Experimental				Controle	Significância*
	Sem. 1	Sem. 2	Sem. 3	Sem. 4		
V1	3	3	3	3	3	NS
V2	3	3	3	3	3	
V3	3	3	3	3	2	
V4	2	2	3	2	3	
V5	3	1	3	1	2	
V6	3	3	3	3	3	
V7	1	3	3	3	3	
V8	3	3	3	2	2	
V9	2	3	2	1	2	
V10	2	3	3	3	2	
Significância*	NS					

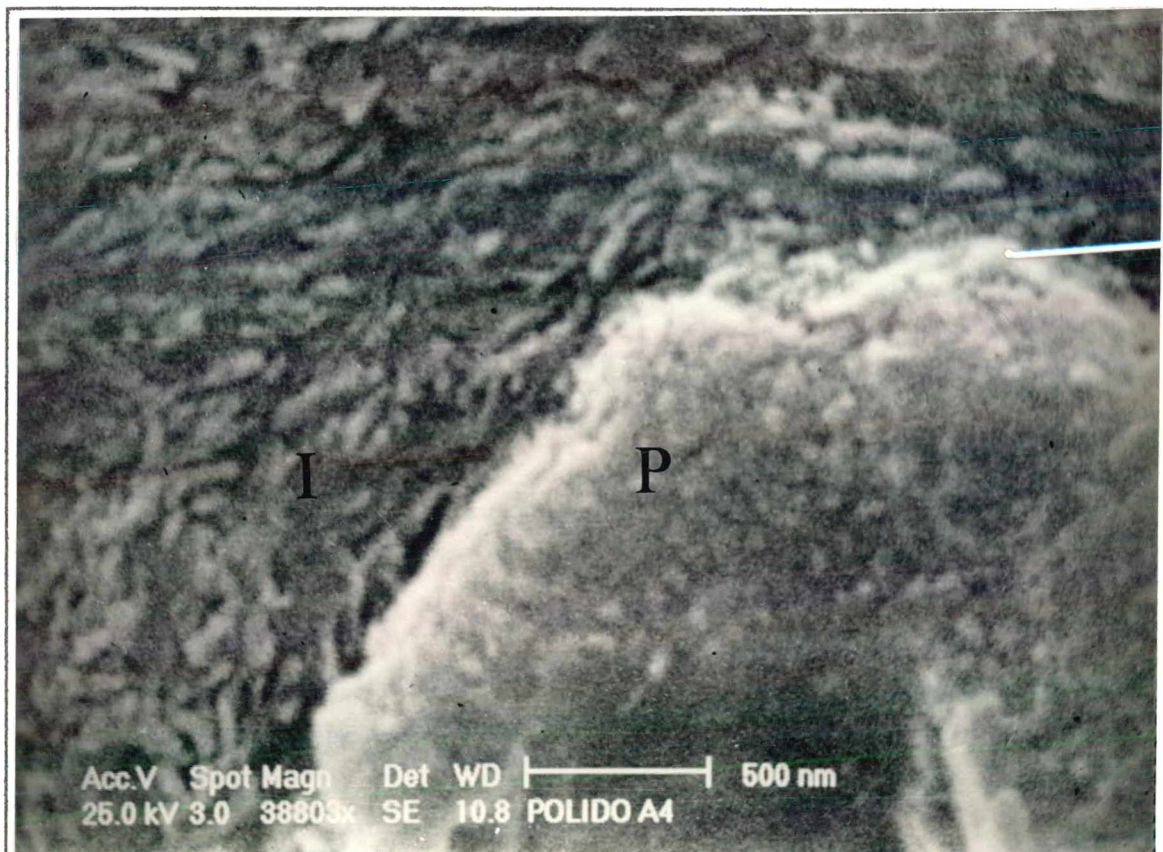
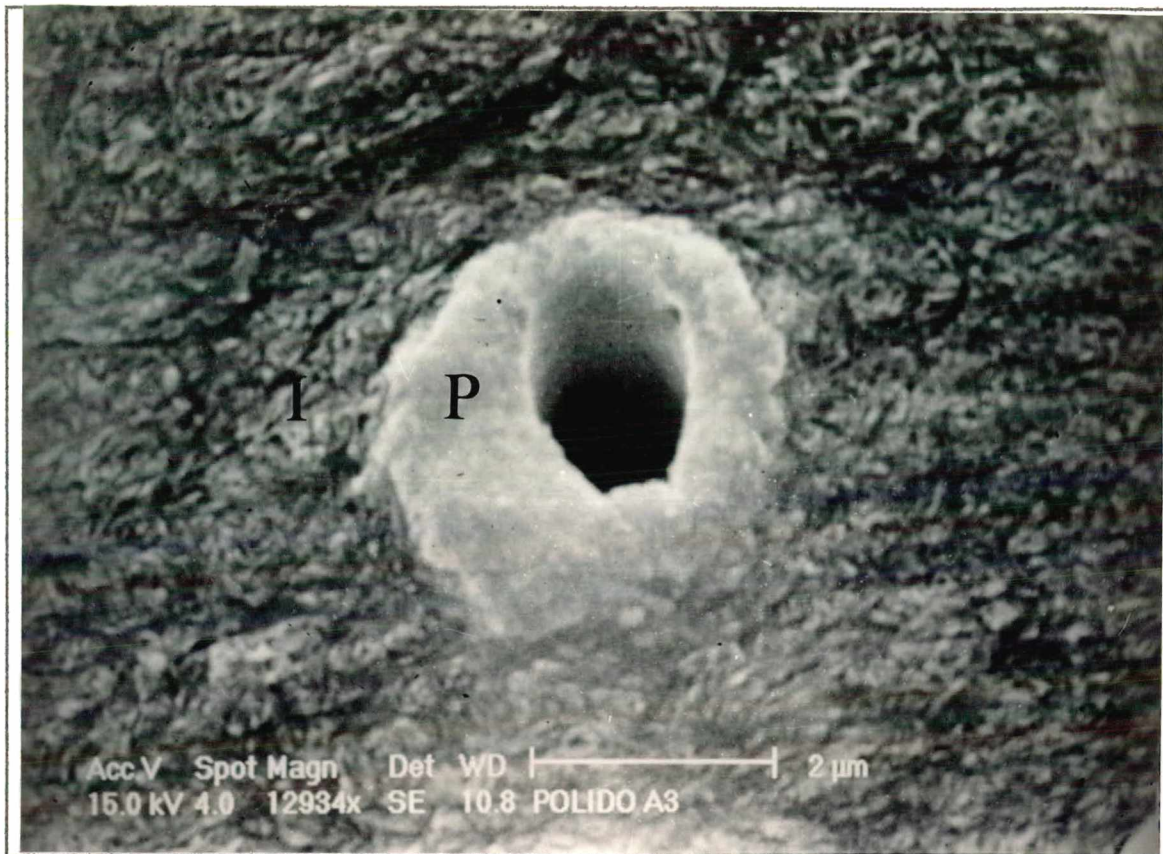
\* Teste de Kruskal-Wallis; NS = não significante

## 5.2 Análise morfológica

### 5.2.1 Análise dos espécimens polidos

A figura (Fig.) 1 mostra o aspecto típico de um espécimen polido, no qual se podem distinguir facilmente as dentinas peritubular e intertubular. Pode-se notar a homogeneidade da superfície, que se apresenta plana, sem escaras ou microcavitações. Pode-se notar que o plano de corte usado seccionou a maioria dos túbulos dentinários perpendicular ao seu longo eixo; podem-se, porém, observar túbulos que foram seccionados mais obliquamente, mostrando uma abertura superficial mais alongada. Esta variação no plano de corte num mesmo espécimen pode apresentar-se mais notória, como vai ser relatado nas próximas seções. Em maior aumento (Fig. 2), pode-se observar que a dentina peritubular se destaca em relação à dentina intertubular, devido à sua maior densidade mineral. Na Fig. 3, pode-se ter uma imagem melhor das dentinas peri e intertubular, que revela a homogeneidade da superfície. Em maior aumento (Fig. 4), tem-se uma melhor visão da ultra-estrutura superficial das dentinas peri e intertubular neste espécimen polido.

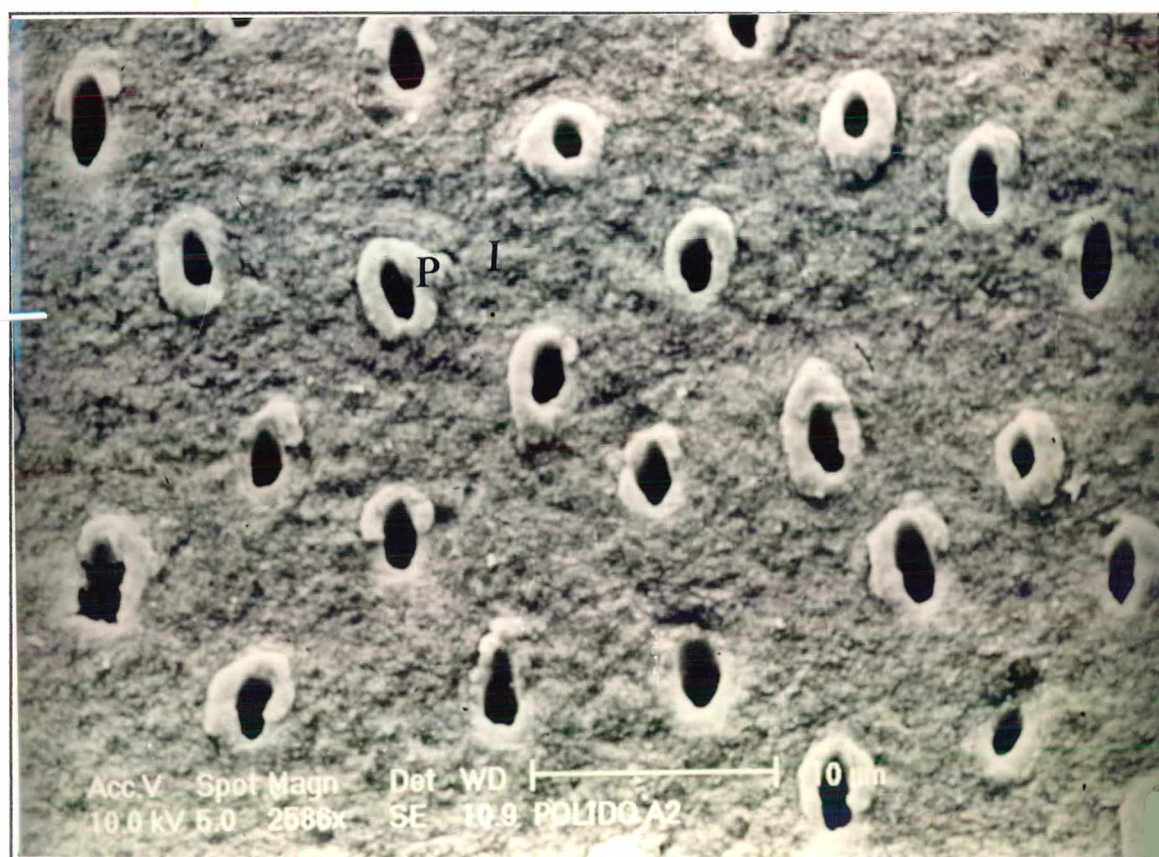
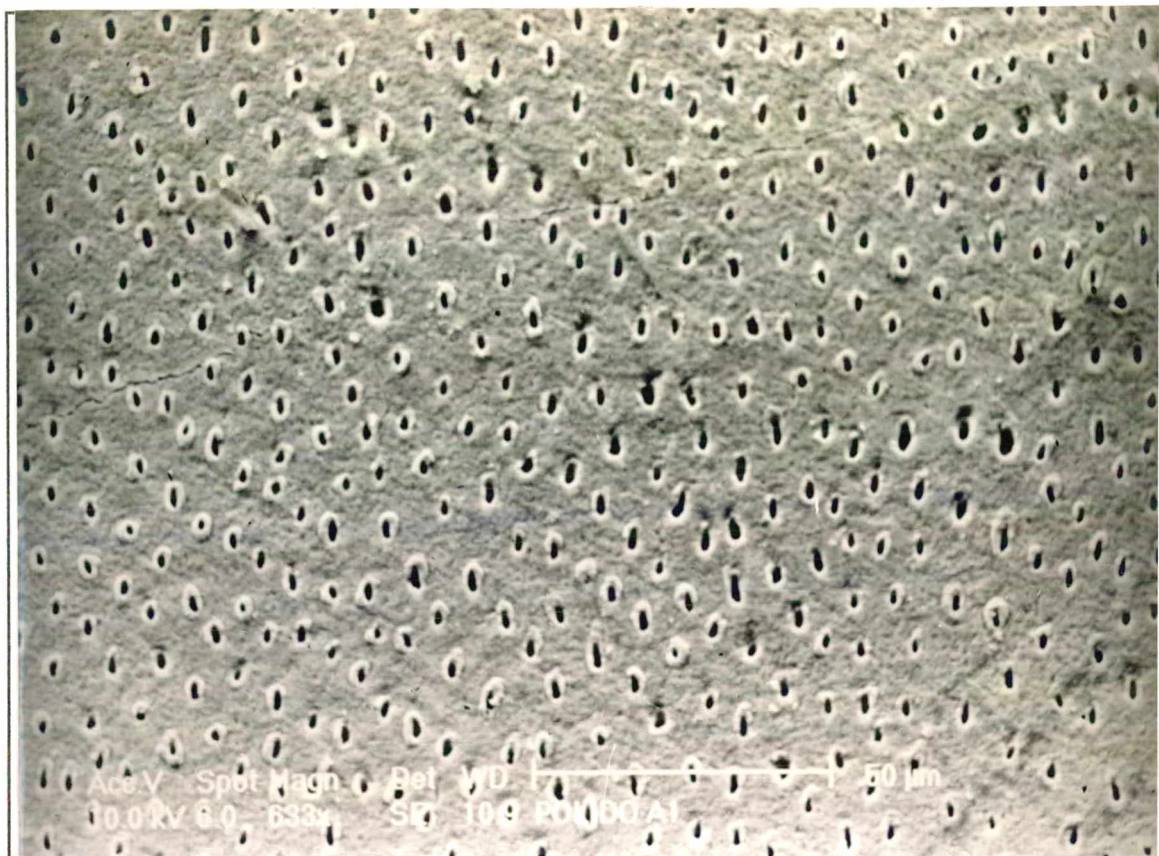




Figs. 3 (em cima) e 4 ( em baixo) - Fotomicrografias de espécimen polido com aumentos de 12.934 vezes (Fig. 3) e 38.803 vezes (Fig. 4). P = dentina peritubular; I = dentina intertubular; seta indica fibras colágenas mineralizadas.







Figs. 1 (em cima) e 2 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen polido com aumentos de 633 vezes (Fig. 1) e 2.586 vezes (Fig. 2). P = dentina peritubular; I = dentina intertubular.



### 5.2.2 Grupo-Controle

Todos os espécimens deste grupos mostraram sinais claros de dissolução superficial, que apareceram desde como claros aumentos nas irregularidades superficiais até como microcavidades, representando as variações inter-individuais no desafio cariogênico. O achado mais interessante e surpreendente foi a presença de depósitos calcificados em sete dos dez espécimens estudados (70 %). A seguir, relataremos os dados obtidos dos casos mais representativos do grupo-controle.

Na Fig. 5 tem-se uma área representativa de um dos espécimens-controle (voluntário 1), que apresentou um dos maiores graus de dissolução. Pode-se notar a erosão de toda a superfície e a formação de microcavidades em certos pontos (setas). Devido ao plano de corte, pode-se observar vários túbulos (cabeça de seta) sobressaindo da superfície, sendo resultados da dissolução da dentina intertubular e da permanência de parte da dentina peritubular, que é, reconhecidamente, mais dura que a primeira.

A ultraestrutura, em aumento maior, mostra uma superfície bastante irregular, com depressões separando degraus, e muitas porosidades em cada degrau (Fig. 6). Neste aumento, pode-se observar o padrão de dissolução heterogênea dos cristais, parcial ou totalmente dissolvidos.

Num outro espécimen (voluntário 7), a superfície apresentou-se semelhante àquela dos espécimens polidos, porém com pequenas áreas de dissolução, representadas por microcavidades isoladas não muito freqüentes (Fig. 7). Na análise em aumento maior, revelou-se a presença de depósitos calcificados em pontos isolados, com aspecto poroso e reticular, espalhados por uma certa distância (Fig. 8). Em certos pontos, os depósitos formavam estruturas mais condensadas, petriformes, também apresentando poros.



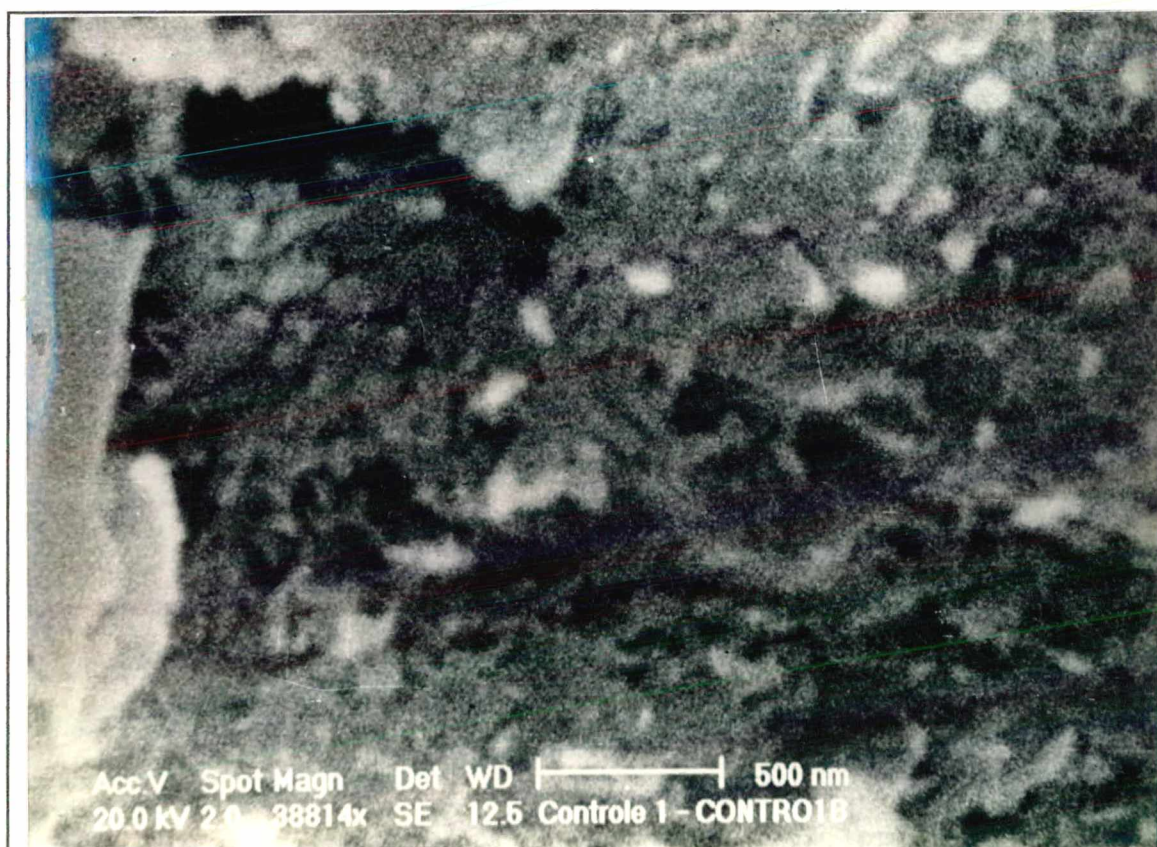
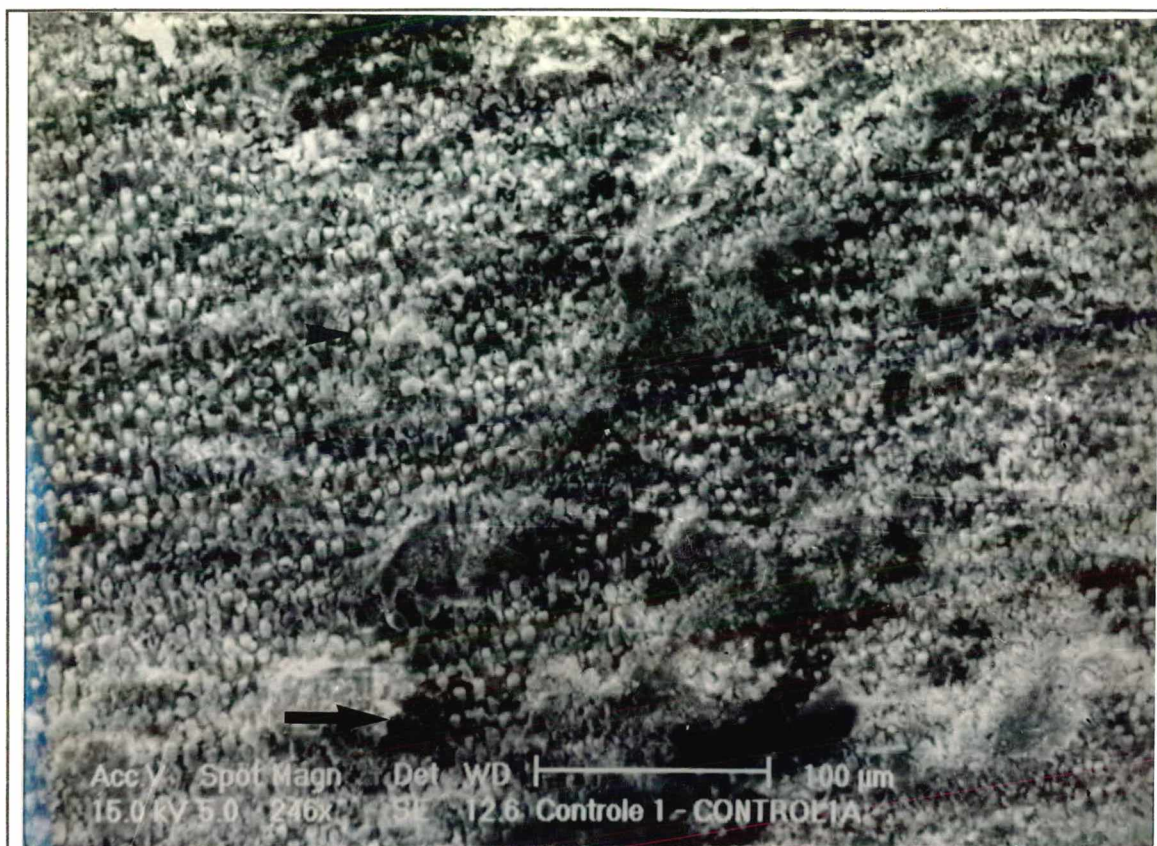
Um estudo em maior aumento da área revelou que o depósito calcificado era formado por massas envolvendo espaços tubulares e arredondados, provavelmente preenchidos, anteriormente, por bactérias (Fig. 9). No canto superior esquerdo da Fig. 9, pode-se observar uma formação mais alta deste depósito. Para se descobrir a sua natureza química, fez-se uma análise espectroscópica de dispersão de energia, que revelou tratar-se de um depósito mineral constituído principalmente por cálcio e fósforo (Fig. 10).

Ainda na Fig. 9, foi detectado um aumento das irregularidades da superfície nas áreas de dentina adjacentes ao depósito calcificado (cabeça de seta). Em maior aumento, foi revelado dissolução da superfície, com aumento das irregularidades em relação aos espécimes polidos (Fig. 11).

Na Fig. 12, está representada a superfície de outro espécimen-controle (voluntário 6), com um alto grau de dissolução cariiosa, com formação de microcavidades. A área fotografada é representativa de todo o espécimen, mostrando a ausência de depósitos calcificados. Porém, num estudo em maior aumento, foi possível encontrar um foco isolado de depósito calcificado (Fig. 13). A análise espectroscópica (Fig. 14) indicou como principais componentes o cálcio e o fósforo.

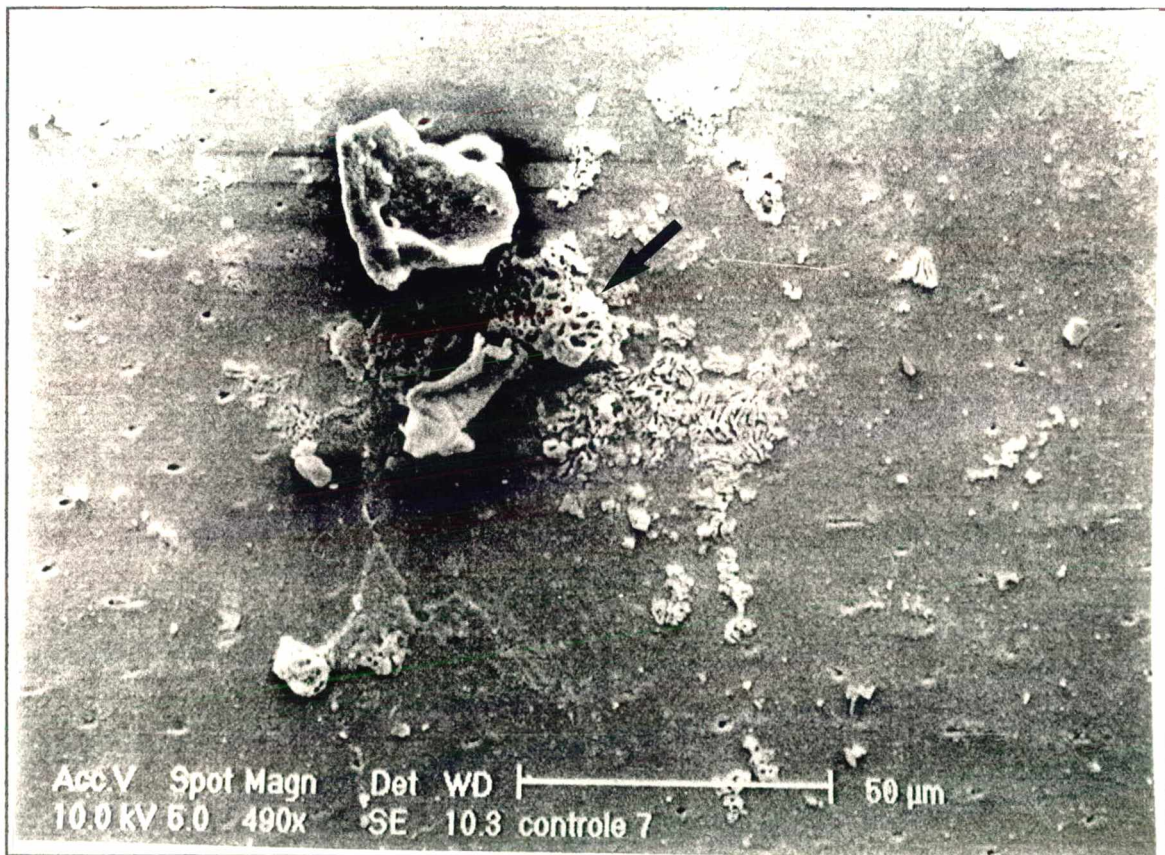
Observações em maior aumento revelaram que o depósito calcificado se estendia por uma área bem maior da superfície dentinária (Fig. 15). A formação reticular calcificada estava presente em toda a área circunjacente ao foco mais evidente, mostrando que a formação de cálculo ocorreu em toda a superfície, e não como um fenômeno isolado numa certa área. É importante notar que na maior parte da área da Fig. 15 o cálculo está presente como finas e delicadas formações reticulares, que seriam de difícil detecção em áreas muito desmineralizadas, caso não estivessem associadas a um foco mais evidente.





Figs. 5 (em cima) e 6 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen-controle - voluntário 1 - com aumentos de 190 vezes (Fig. 5) e 38.814 vezes (Fig. 6). Observar a dissolução superficial, com formação de microcavidades, causada pelo desafio cariogênico (Fig. 5). A Fig. 6 mostra detalhes da superfície afetada, com aumento das porosidades entre os cristais de hidroxiapatita. Seta indica microcavidades. Cabeça de seta indica túbulos dentinários.





Figs. 7 (em cima) e 8 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen-controle - voluntário 7 - com aumento de 633 vezes. A Fig. 7 mostra dissolução localizada da superfície, com formação de microcavidades (M). A Fig. 8 mostra depósitos de cálculo dental dispostos, principalmente, na sua porção central (seta).



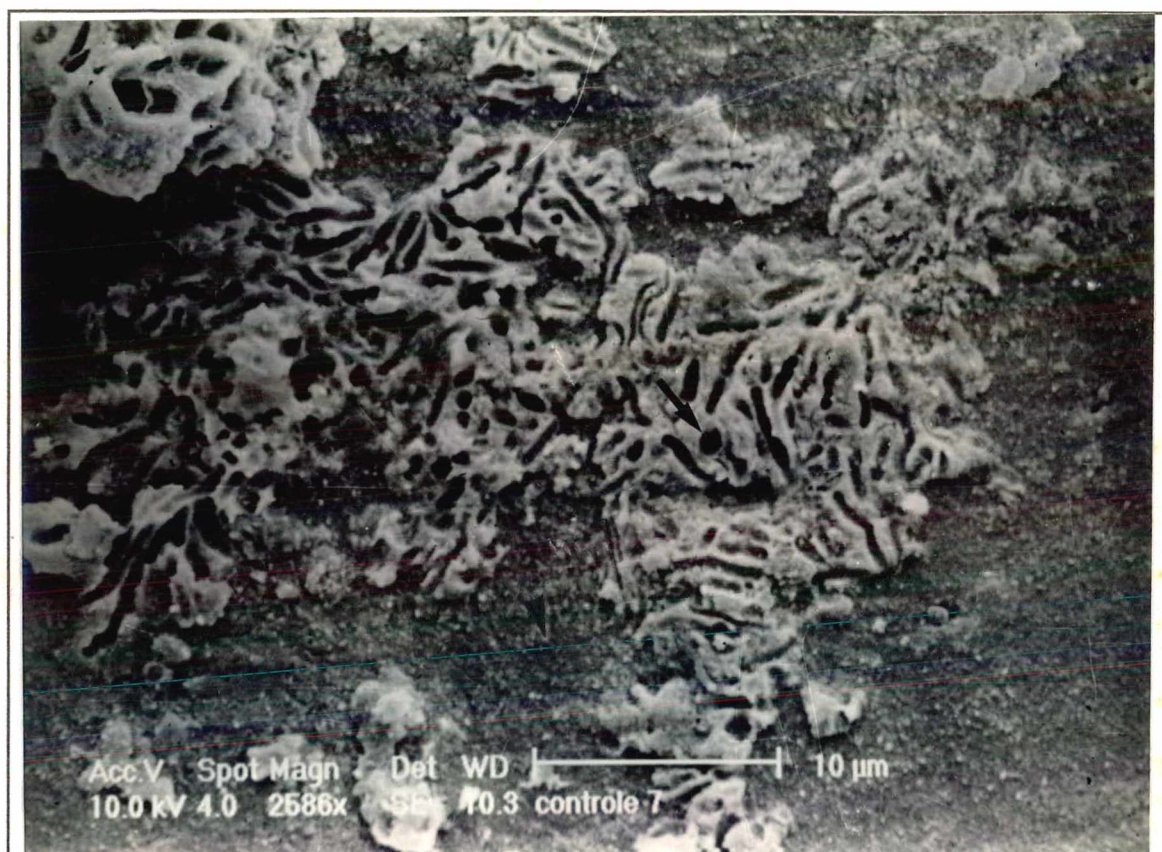


Fig. 9 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 7 - com aumento de 2.586 vezes, mostrando depósito de cálculo dental visto na porção central da Fig. 8. Seta indica espaço previamente ocupado por bactérias. Cabeça de seta indica área de dissolução.

f:\odonto\frederic\contro7a.spc

Label:

Prst:100L

Lsec:100

08:34:52

3-8-96

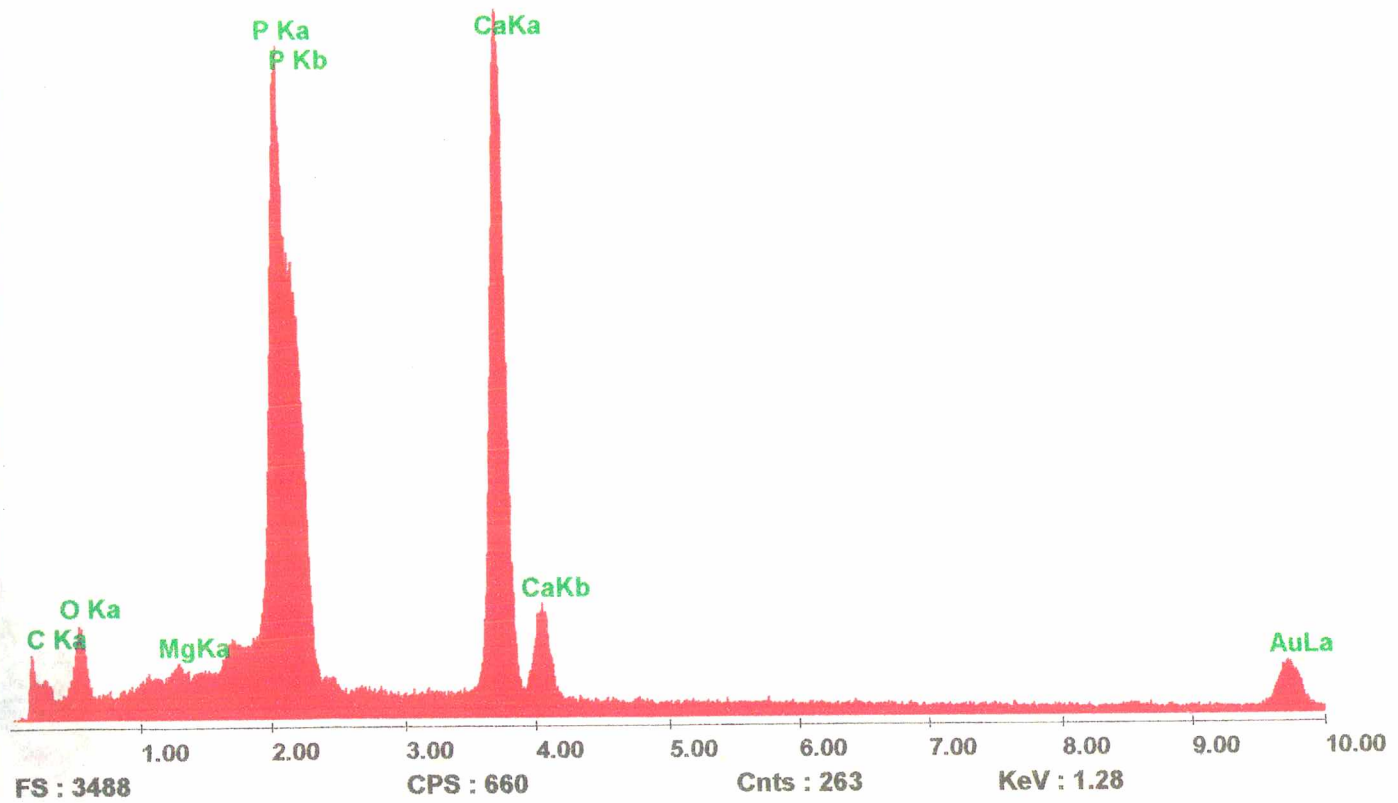


Fig. 10 - Análise espectroscópica do depósito calcificado visto na Fig. 9. Os dois principais picos representam o cálcio e o fósforo.

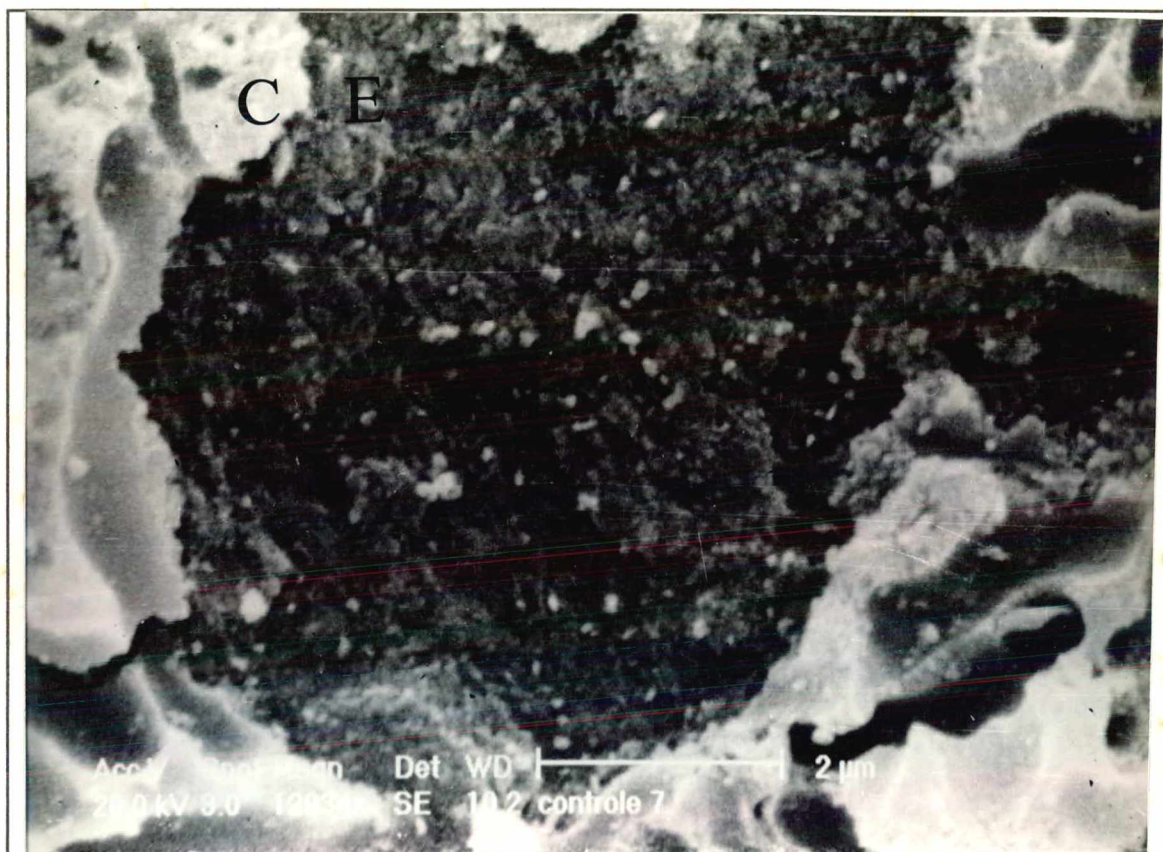


Fig. 11 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 7 - com aumento de 12.934 vezes. Mostra íntima relação entre o depósito de cálculo dental (C) e a superfície dentinária erosionada pelo desafio cariogênico (E).





Figs. 12 (em cima) e 13 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen-controle - voluntário 6 - com aumento de 161 vezes (Fig. 12) e 633 vezes (Fig. 13). A Fig. 12 mostra dissolução superficial da dentina, com formação de microcavidades (seta) e ausência de cálculo dental. A Fig. 13 mostra pequeno depósito de cálculo dental (seta) no centro da área erosionada pelo desafio cariogênico.

f:\odonto\frederic\contro6a.spc

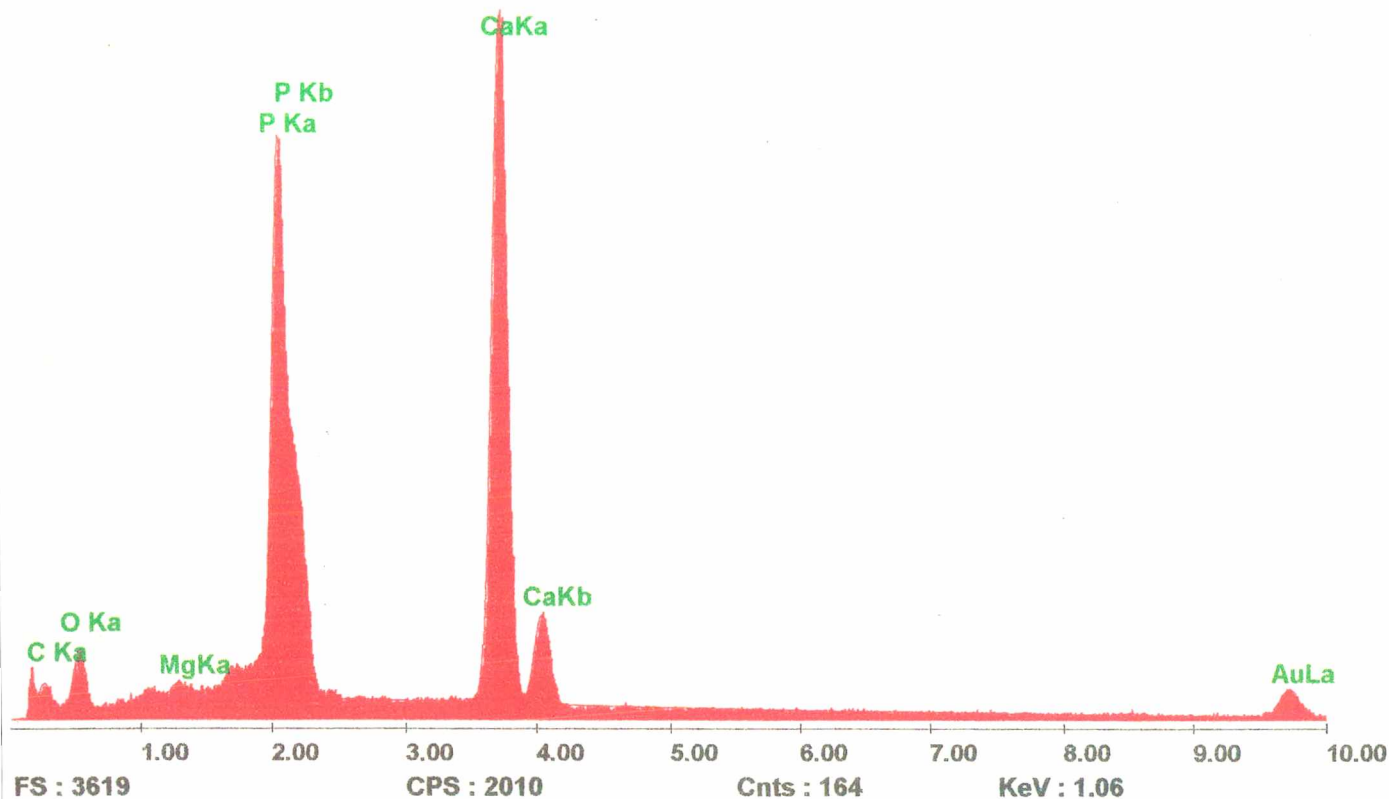
Label:

Prst:100L

Lsec:100

10:15:44

3-8-96



Standardless, Elements

PEI Default Set : 1

Element	K Ratio	Weight %	Atomic %
C K	0.0024	0.245	1.197
O K	0.0328	3.283	12.048
MgK	0.0030	0.301	0.726
P K	0.1341	13.405	25.410
CaK	0.3081	30.810	45.132
AuL	0.5196	51.957	15.487
Total		100.000	100.000

Element	Net Inten	Backgrd	Inten Error	P/B
C K	9.90	5.80	4.00	1.71
O K	23.17	5.80	2.32	3.99
MgK	5.19	14.08	8.46	0.37
P K	268.72	14.36	0.63	18.71
CaK	379.98	11.30	0.52	33.63
AuL	23.39	0.00	2.07	23.39

Fig. 14 - Análise espectroscópica do depósito calcificado visto na Fig. 13. Os principais picos representam cálcio e fósforo.



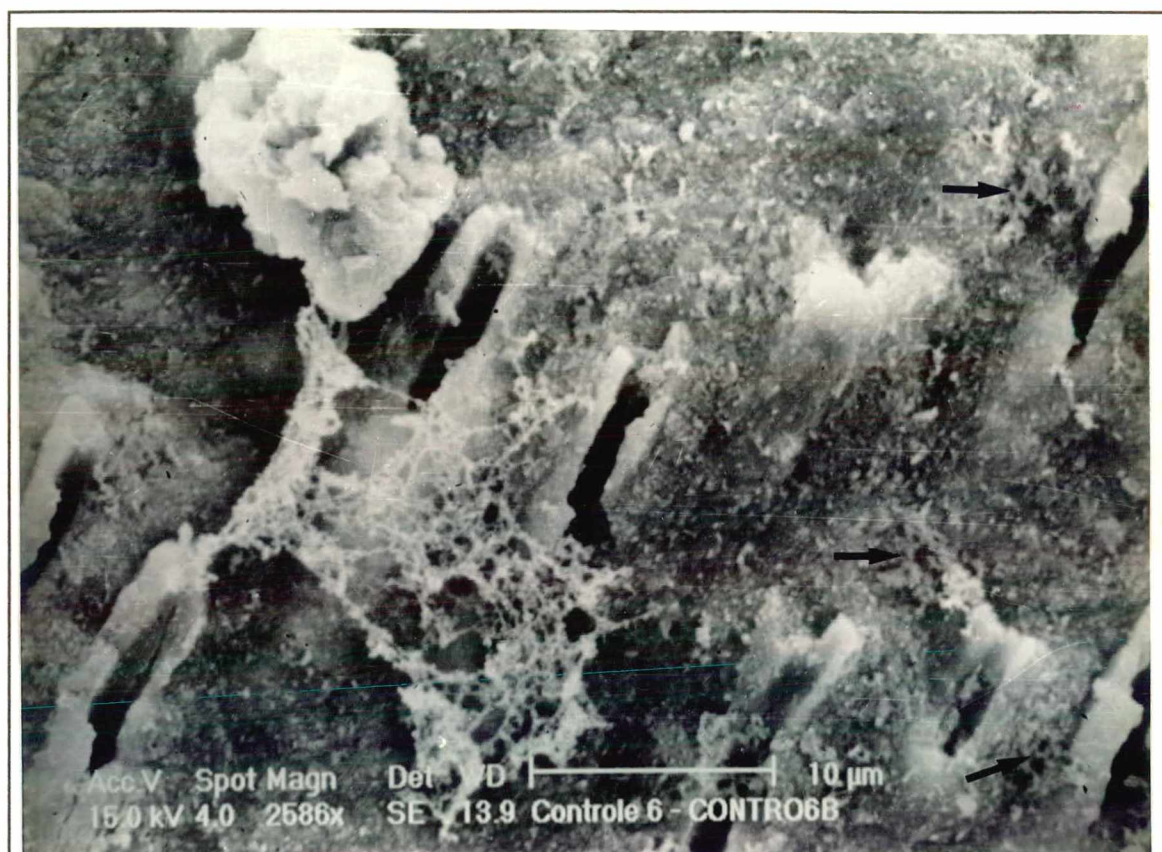
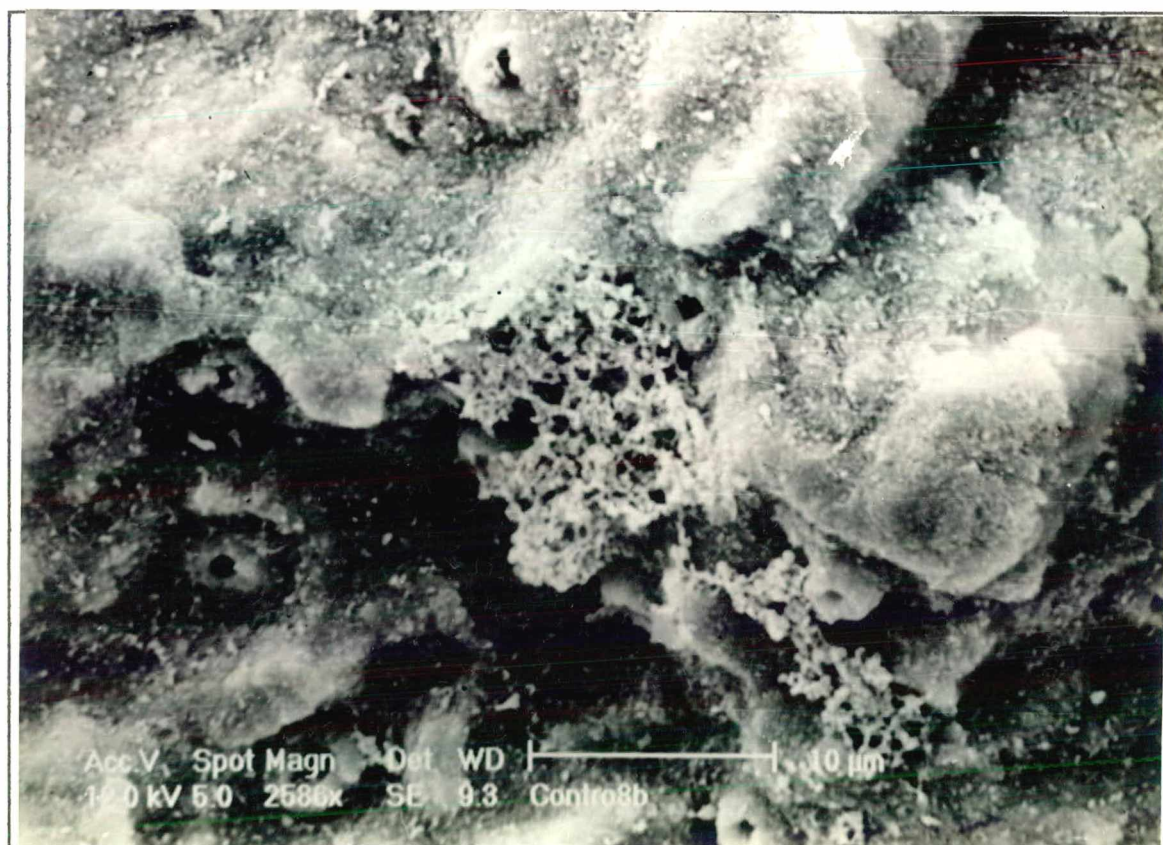
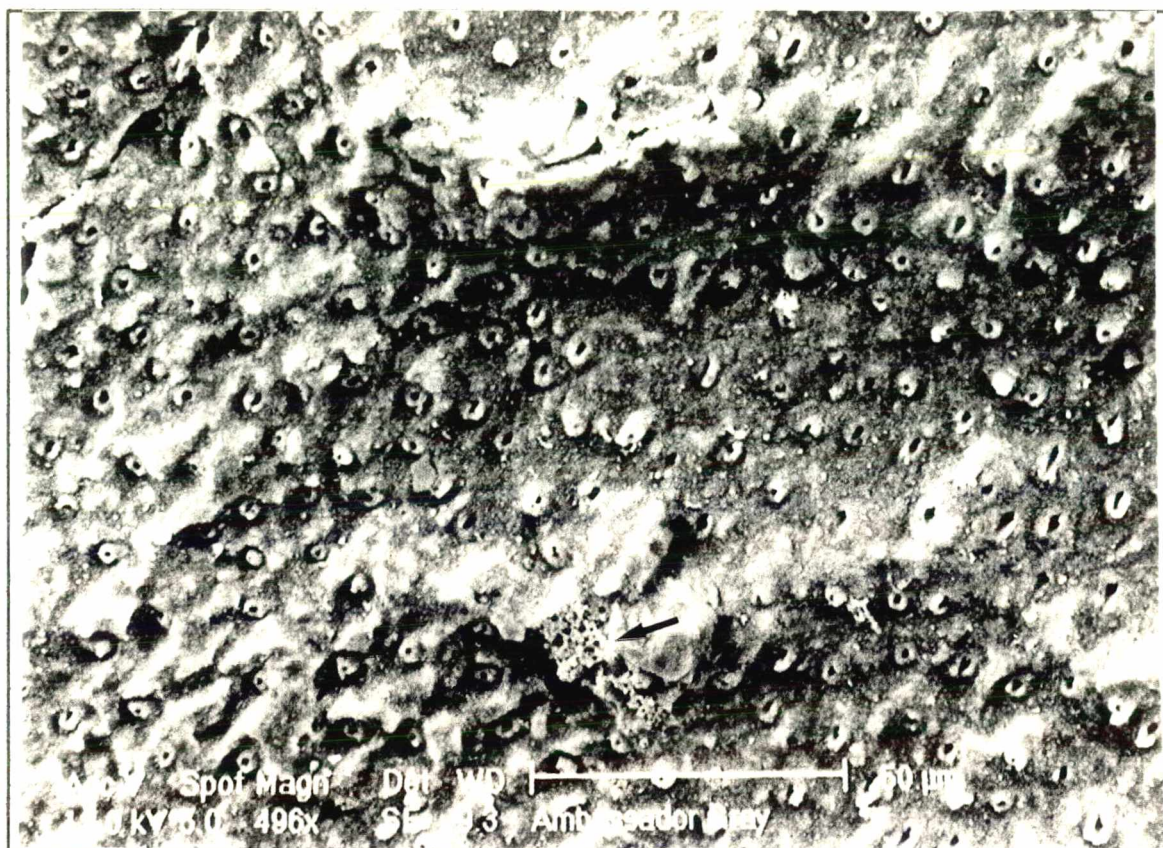


Fig. 15 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 6 - com aumento de 2.586 vezes. Detalhes do depósito de cálculo dental visto na Fig. 13, mostrando delicadas formações calcificadas em toda a adjacência (seta).

No voluntário 8, o espécimen-controle apresentou um alto grau de dissolução mineral, com microcavidades (Fig. 16). O plano de corte deste espécimen foi perpendicular à direção dos túbulos dentinários. Em menor aumento foi possível observar pontos isolados de depósitos calcificados (Fig. 16). Com um exame em maior aumento da área onde se encontrava um depósito calcificado observado na Fig. 16, foi possível notar que a área coberta por depósito calcificado era bem maior do que se estimava (Fig. 17). Podem-se verificar várias pequenas formações calcificadas, semelhantes a poeira, em toda a dentina adjacente à área onde se encontra o depósito maior. Este se apresenta com o básico aspecto reticulado, conectando-se com pequenas formações calcificadas adjacentes. A análise espectroscópica revelou um alto conteúdo de impurezas, representadas pelo carbono e pelo alumínio, mas o cálcio e o fósforo se mostraram como importantes componentes (Fig. 18). O estudo em maior aumento mostrou espaços vazios, de tamanhos variados (Fig. 19), e uma maior extensão do depósito calcificado (Fig. 20).

No espécimen do voluntário 9, encontraram-se os resultados mais interessantes do grupo-controle. Em menor aumento, encontraram-se três aspectos morfológicos diferentes. Um destes aspectos apresentava extensa dissolução numa área, onde houve a formação de uma cavidade, e na área logo adjacente há depósitos calcificados baixos espalhados por uma certa extensão (Fig. 21). No estudo em maior aumento da área situada no interior da cavidade, verificaram-se grandes irregularidades, com microcavitações separando degraus, e muitas porosidades em cada degrau (Fig. 22). Foi possível detectar formações calcificadas no interior de microcavidades (Fig. 21), possivelmente representando cálculo dental. Na área adjacente à cavidade, observou-se extensa formação de depósito calcificado (Fig. 23), cujos principais componentes eram fosfato e cálcio (Fig. 24). A Fig. 25 mostra mais detalhes do depósito calcificado.





Figs. 16 (em cima) e 17 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen-control - voluntário 8 - com aumento de 633 vezes (Fig. 16) e 2.586 vezes (Fig. 17). A Fig. 16 mostra avançada dissolução superficial da dentina e um depósito de cálculo dental na porção inferior esquerda (seta). Visto em maior aumento, este depósito apresenta delicadas formações reticulares calcificadas (Fig. 17).



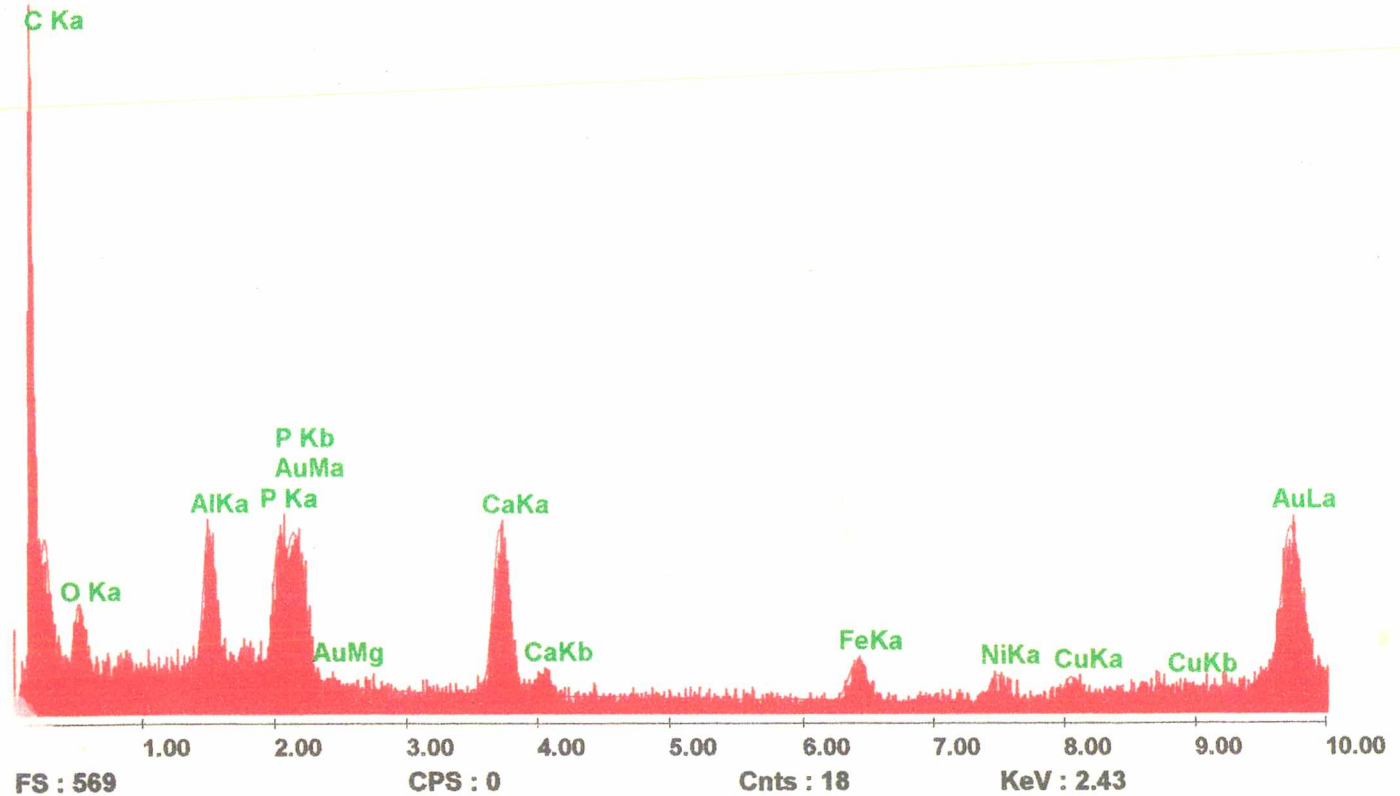
Label:Depósito Calcificado

Prst:100L

Lsec:100

16:18:52

11-21-95



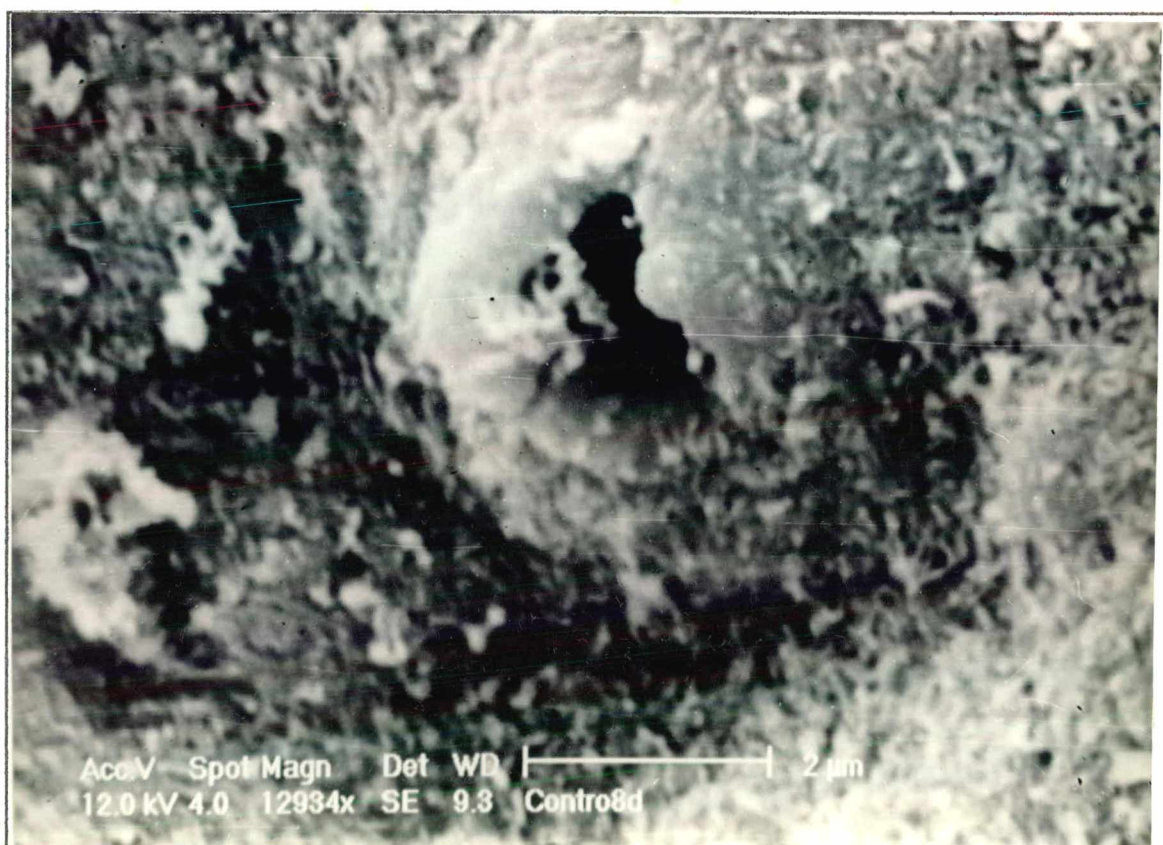
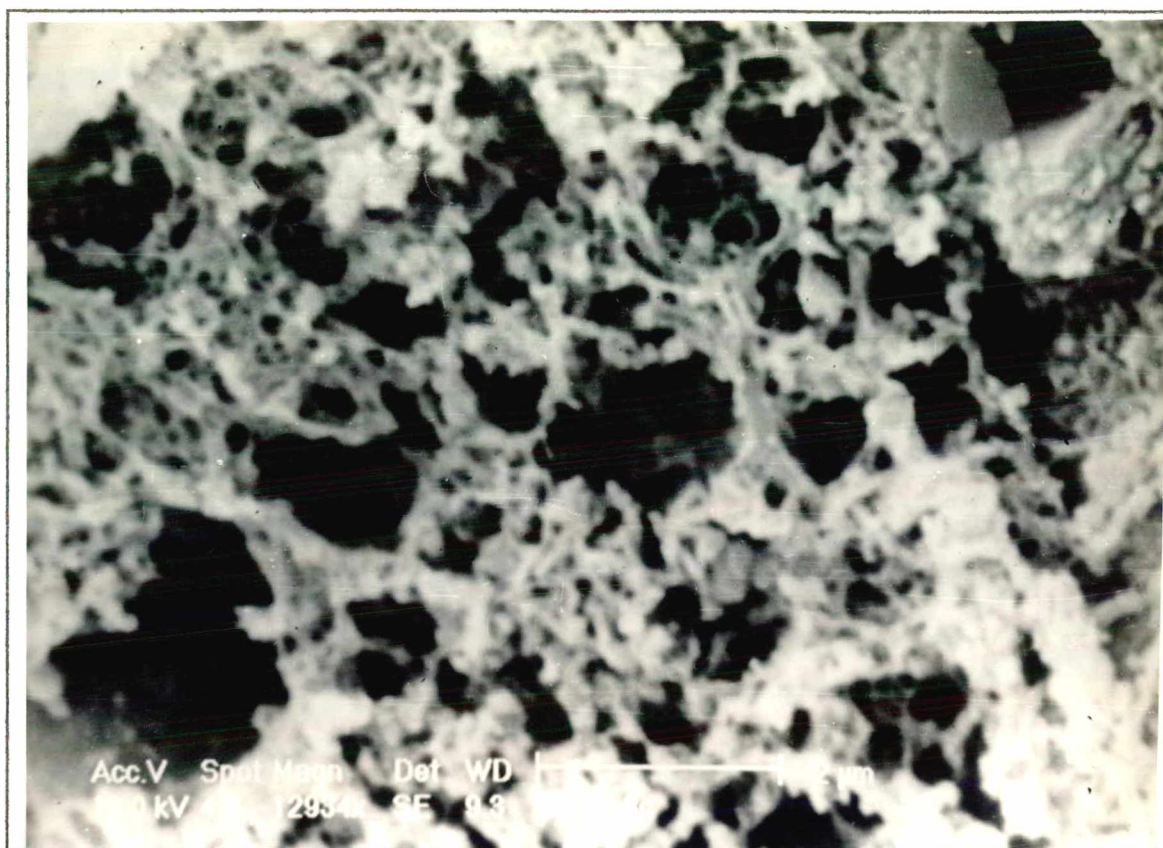
Standardless, Elements

PEI Default Set : 1

Element	K Ratio	Weight %	Atomic %
C K	0.0309	3.089	12.572
O K	0.0903	9.032	27.597
AlK	0.0554	5.545	10.047
P K	0.0529	5.287	8.344
AuM	0.4536	45.355	11.257
CaK	0.1060	10.595	12.924
FeK	0.0552	5.521	4.833
NiK	0.0697	6.973	5.807
CuK	0.0860	8.604	6.620
Total		100.000	100.000

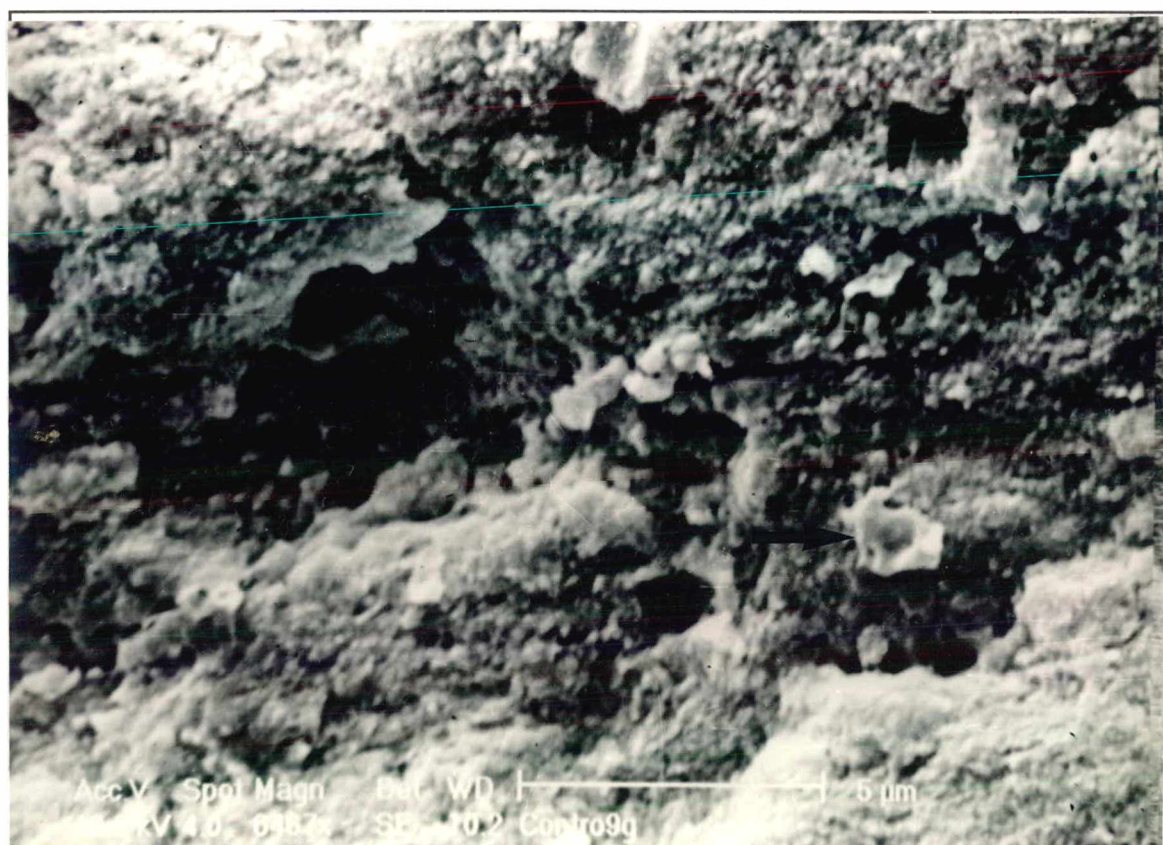
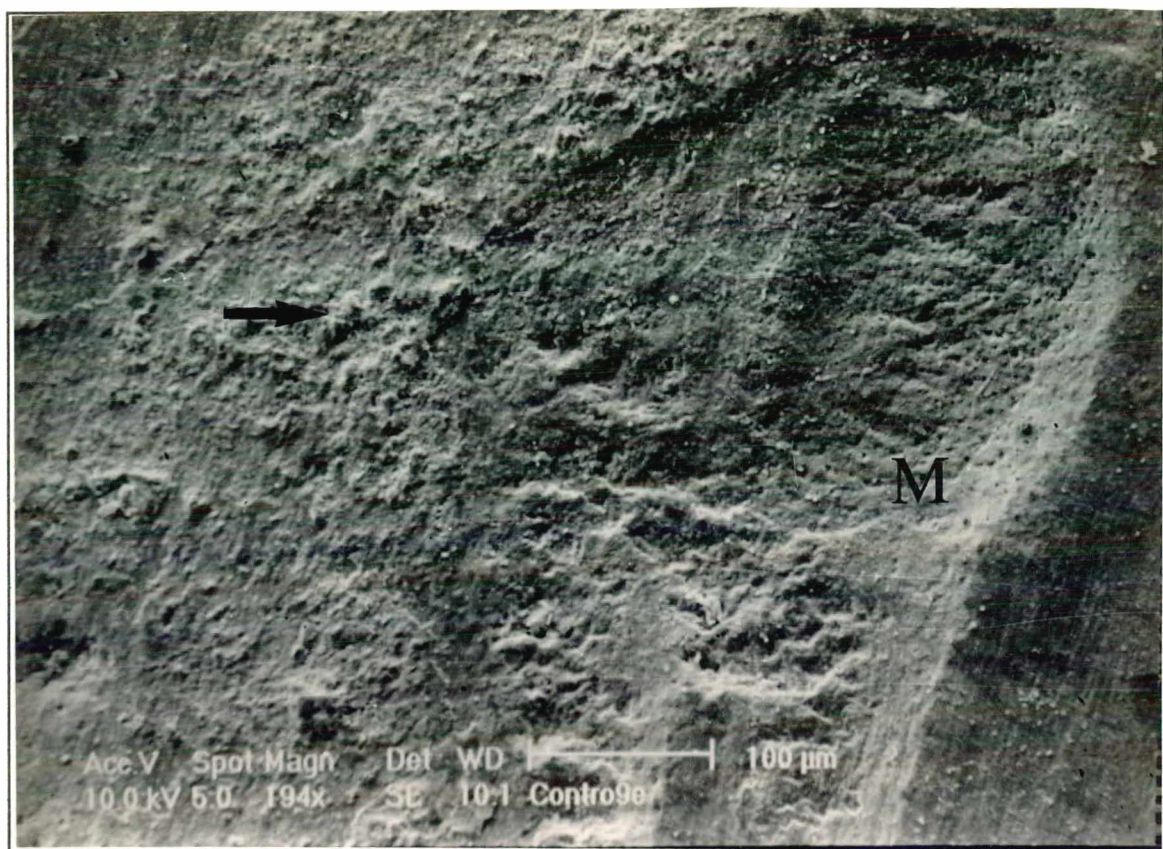
Element	Net Inten	Backgrd	Inten Error	P/B
C K	9.16	2.20	3.68	4.16
O K	5.19	2.20	5.24	2.36
AlK	11.59	2.64	3.25	4.39
P K	10.60	2.40	3.40	4.42
AuM	11.41	2.40	3.51	4.75
CaK	14.42	2.10	2.82	6.87
FeK	3.87	1.60	6.04	2.42
NiK	3.90	0.00	5.06	3.90
CuK	4.01	0.00	5.01	4.01

Fig. 18 - Análise espectroscópica de depósito calcificado visto na Fig. 17. O principal pico representa carbono, e o ouro, o cálcio, o fosfato, e o alumínio seguem como principais componentes.



Figs. 19 (em cima) e 20 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen-controlê - voluntário 8 - com aumento de 12.934 vezes. A Fig. 19 mostra detalhes do maior depósito calcificado visto na Fig. 17. Podem-se ver os espaços vazios, antes ocupados por bactérias. A Fig. 20 mostra um depósito de cálculo dental na entrada do túbulo dentinário, localizado nas proximidades e cercado por outros depósitos de cálculo.





Figs. 21 (em cima) e 22 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumentos de 194 vezes (Fig. 21) e 6.487 vezes (Fig. 22). A Fig. 21 mostra uma microcavidade relativamente extensa (M), adjacente a uma área com depósitos de cálculo dental (seta). A Fig. 22 mostra detalhes da superfície dentinária erosionada no interior da microcavidade, com um depósito de cálculo dental (seta).



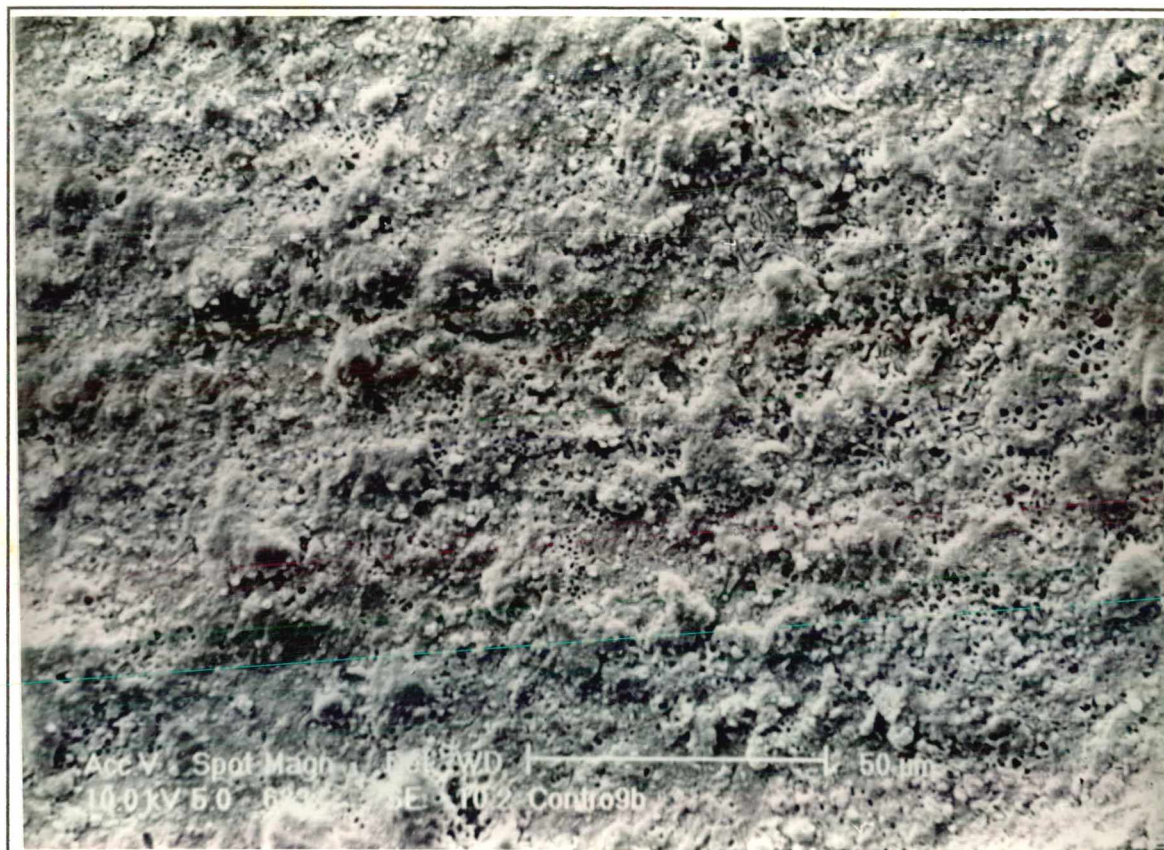


Fig. 23 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 689 vezes, mostrando a área adjacente à microcavidade vista na Fig. 21, toda coberta por depósitos de cálculo dental.

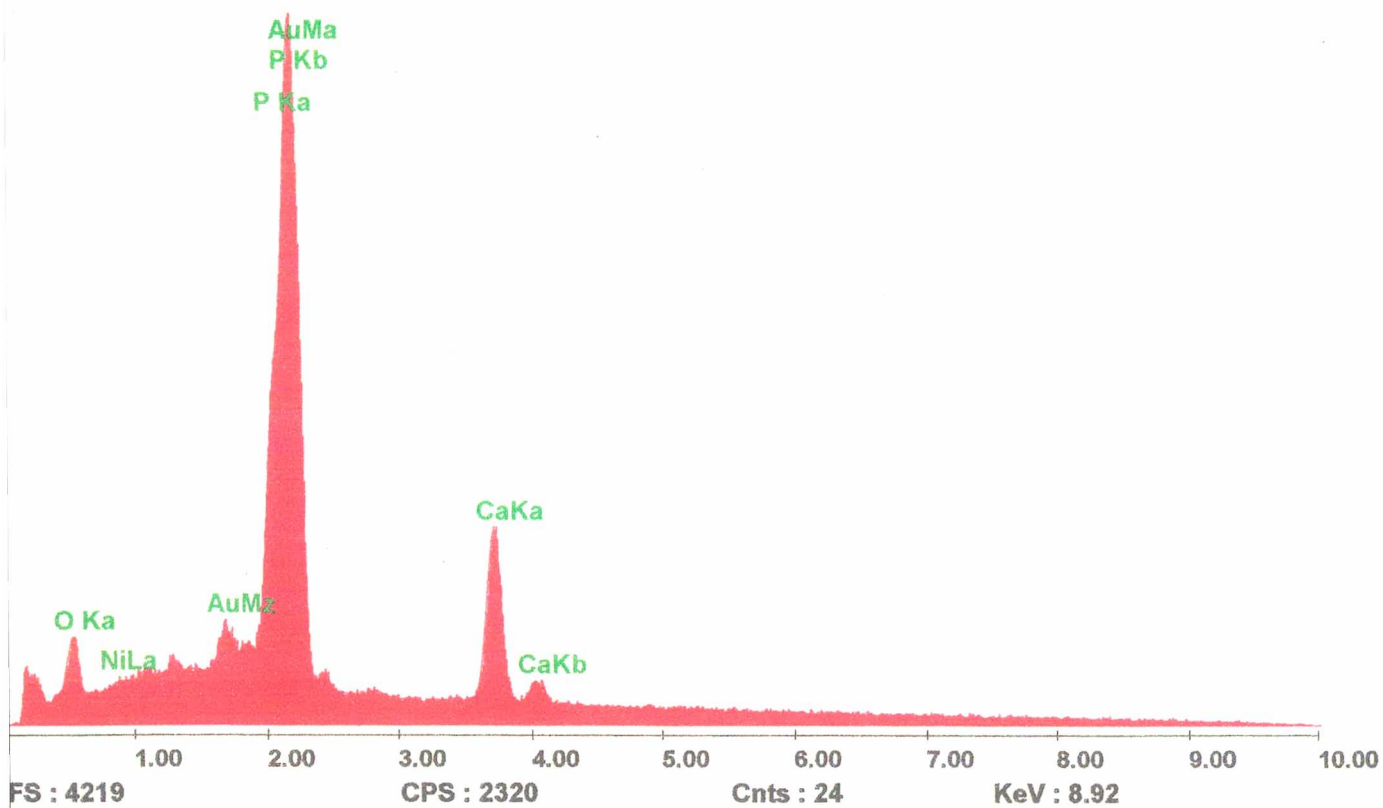
Label:Depósito Calcificado

Prst:100L

Lsec:100

11:40:46

11-12-95



ZAF Quantification Method, Standardless

PEI Default Set : 1, Elements

Element	K Ratio	Weight %	Atomic %
O K	0.0163	3.651	23.556
NiL	0.0040	0.582	1.023
AuM	0.8458	84.967	44.528
P K	0.0505	4.067	13.554
CaK	0.0834	6.733	17.340
Total		100.000	100.000

Element	Net Inten	Backgrd	Inten Error	P/B
O K	28.20	16.20	2.36	1.74
NiL	2.24	25.36	23.45	0.09
AuM	378.27	28.33	0.53	13.35
P K	151.19	29.46	1.02	5.13
CaK	112.43	17.06	1.01	6.59

Element	Z	A	F
O K	1.4400	0.2898	1.0000
NiL	1.1987	0.5407	1.0001
AuM	0.9092	1.0203	1.0002
P K	1.3261	0.8716	1.0003
CaK	1.3693	0.8430	1.0000

Fig. 24 - Análise espectroscópica de depósito calcificado visto na Fig. 23. Os principais picos representam ouro, fosfato e cálcio.



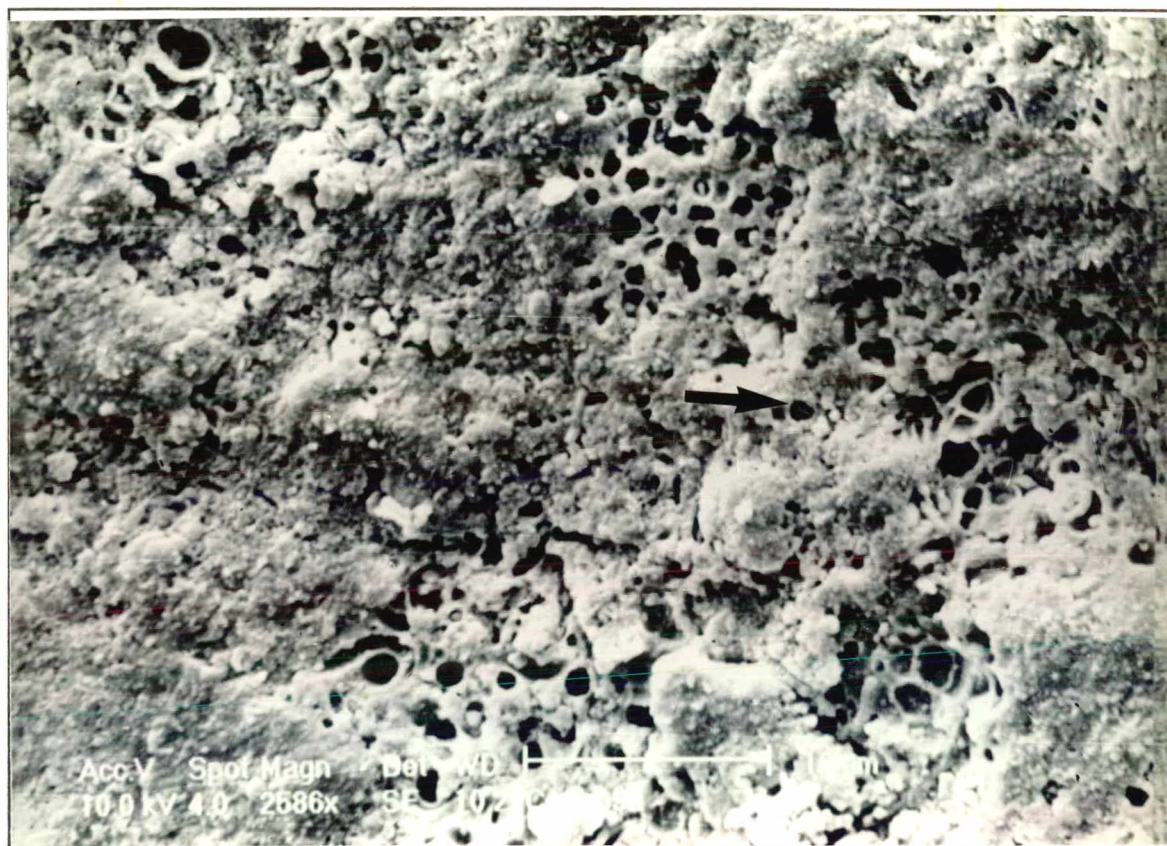


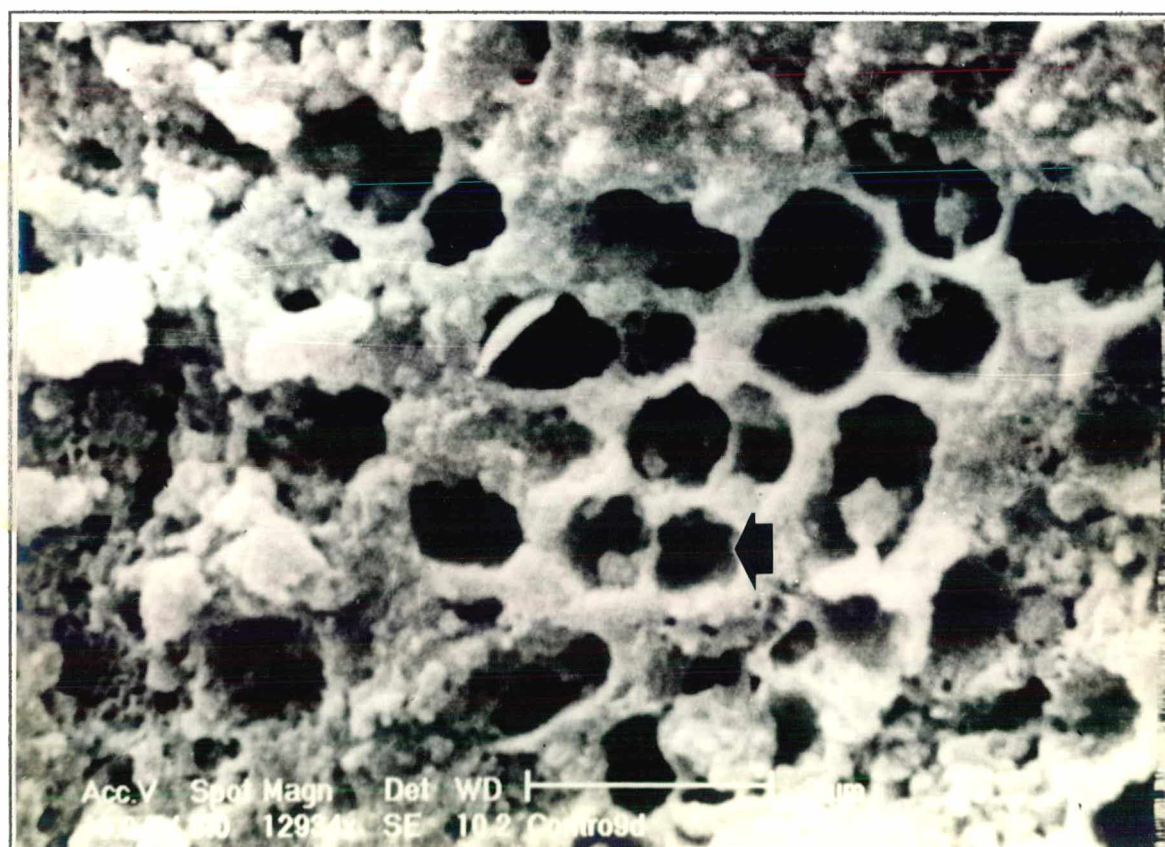
Fig. 25 - Fotomicrografia de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 2.586 vezes, mostrando a ultra-estrutura do depósito de cálculo dental visto na Fig. 23. Áreas compactas e áreas com aspecto reticulado se alternam na superfície do cálculo dental. Seta indica espaço previamente ocupado por bactérias.

Notam-se espaços esféricos vazios, previamente preenchidos por bactérias na forma de cocos, adjacentes a áreas calcificadas compactas.

Num outro aspecto morfológico encontrado neste caso, encontramos um grande depósito calcificado, adjacente a áreas com formações mais baixas de depósitos calcificados (Fig. 26). Na parte inferior direita da figura, pode-se notar que a dentina apresenta-se muito semelhante àquela dos espécimens polidos. Na Fig. 27 pode-se observar, em maior aumento, a estrutura do grande depósito calcificado, que é idêntica àquela da Fig. 25.

Finalmente, no terceiro aspecto morfológico encontrado, sua superfície se apresentava, em menor aumento, com áreas erosionadas, em pequeno grau, adjacentes a áreas não alteradas (Fig. 28). Em maior aumento, as áreas erosionadas revelaram-se mais evidentes (Fig. 29). Um estudo mais detalhado revelou dissolução da dentina peritubular e a presença de delicados depósitos calcificados sobre a dentina intertubular (Fig. 30).





Figs. 26 (em cima) e 27 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen-controle - voluntário 9 - com aumento de 490 vezes (Fig. 26) e 12.934 vezes (Fig. 27). A Fig. 26 mostra o maior depósito de cálculo dental visto nos espécimens-controle, e a Fig. 27 mostra detalhes de sua ultra-estrutura, que apresenta espaços vazios, antes preenchidos por bactérias na forma de cocos (seta).



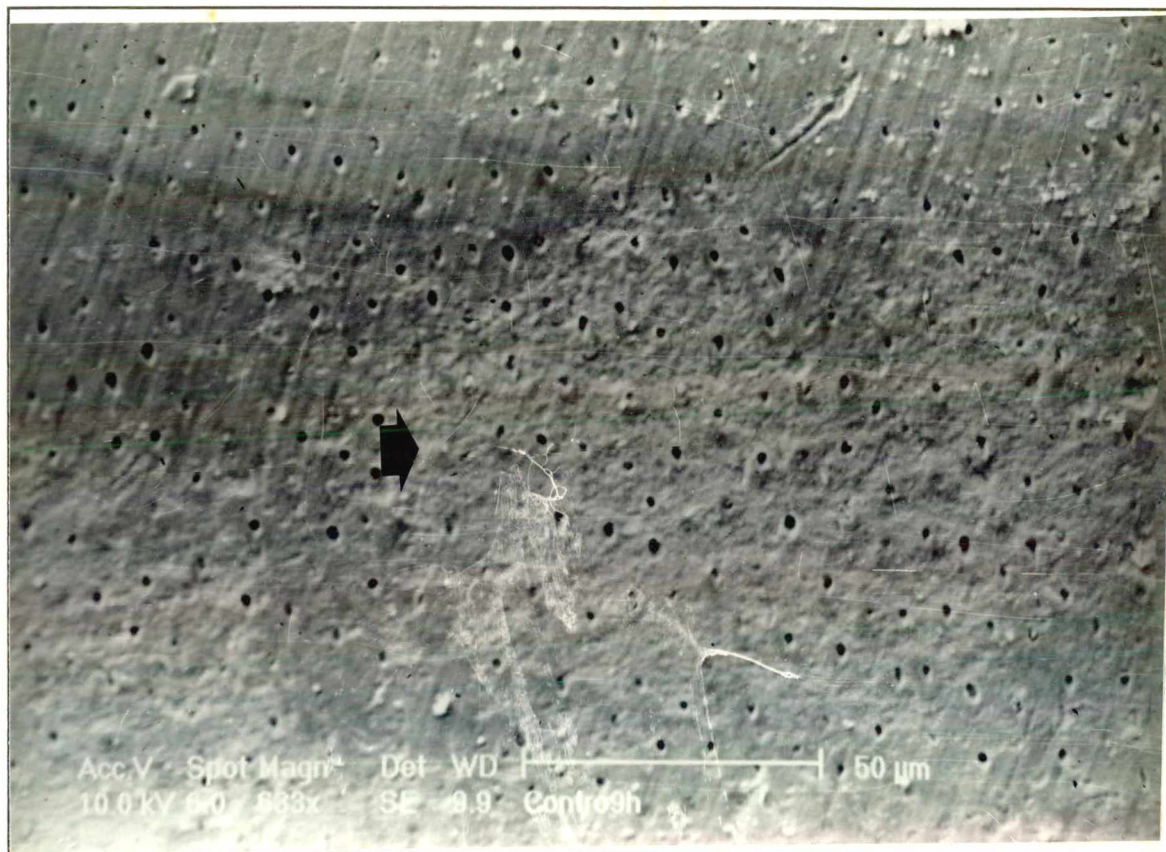
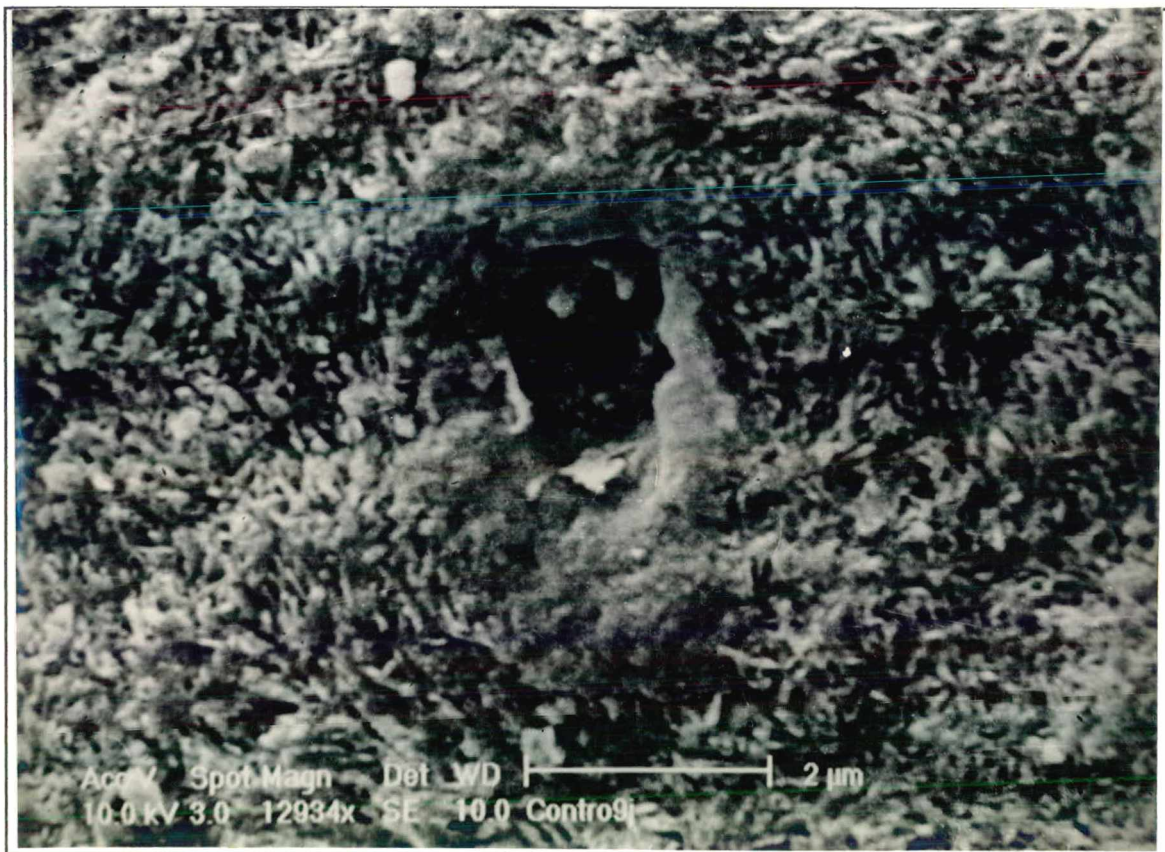
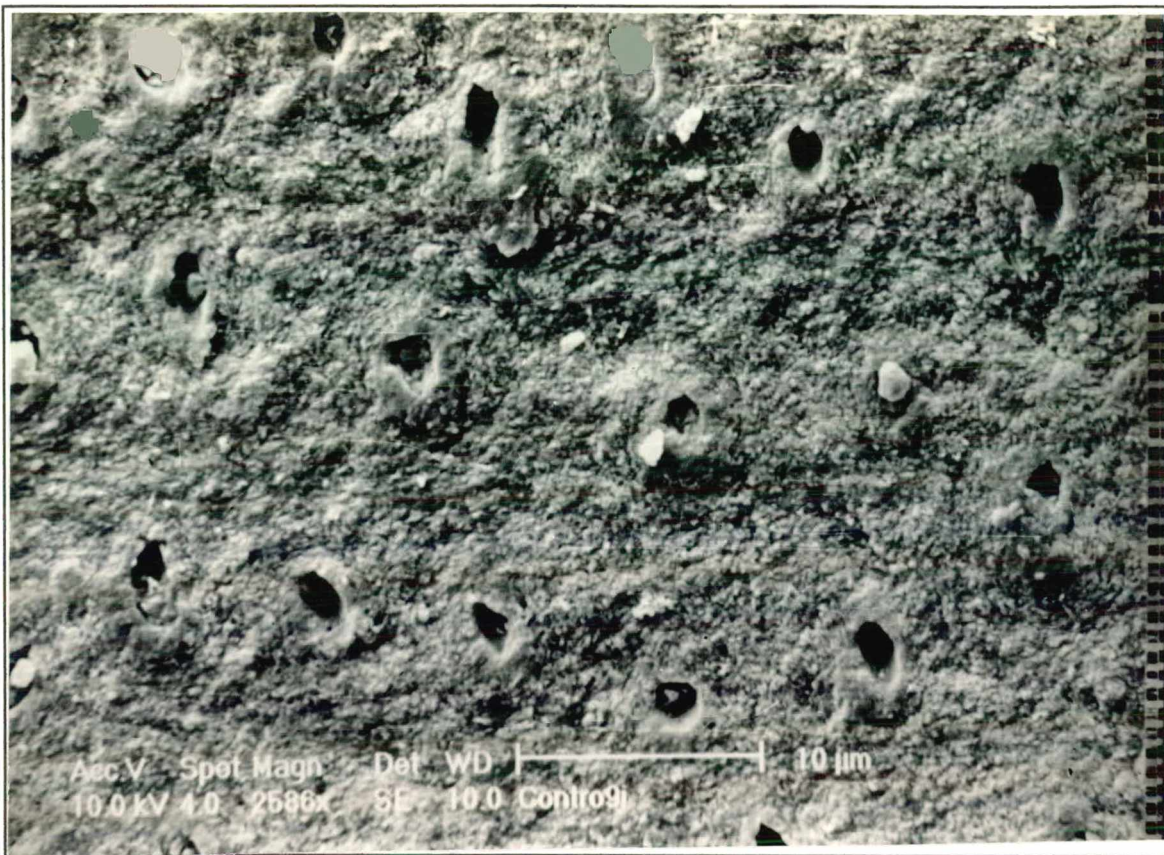


Fig. 28 - Fotomicrografia de espécimen-control - voluntário 9 - com aumento de 633 vezes, mostrando área com dissolução superficial (seta), adjacente àquela vista na Fig. 26.





Figs. 29 (em cima) e 30 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen-control - voluntário 9 - com aumento de 2.586 vezes (Fig. 29) e 12.934 (Fig. 30). A Fig. 29 mostra a área vista na Fig. 28 que apresenta dissolução superficial, e a Fig. 30 mostra detalhes ultra-estruturais da dissolução superficial.



### 5.2.3 Grupo experimental

Na Fig. 31, tem-se uma visão representativa do espécimen experimental do V2. Nota-se uma superfície relativamente plana e homogênea, com uma leve diminuição da lisura de superfície, em relação ao espécimen polido, o que pode ter sido causado pela limpeza com pedra pomes e água. No centro e na porção superior da área enquadrada, pode-se notar a presença de depósito calcificado formando estruturas compactas, com o aspecto reticulado predominando na maior extensão dos depósitos. O estudo espectroscópico mostrou que sua composição era semelhante à dos outros casos já relatados, com o cálcio e com o fósforo sendo os componentes principais (Fig. 32). No estudo em maior aumento de um dos depósitos mostrados na Fig. 31, verificou-se que as áreas adjacentes aos depósitos calcificados maiores também apresentam depósitos calcificados, formando finas estruturas calcificadas reticulares (Fig. 33). Com um aumento ainda maior, verifica-se o detalhe da dentina peritubular, sua relação com a dentina intertubular, a preservação desta duas partes e a presença de delicadas formações reticulares calcificadas (Fig. 34).

No voluntário V3, encontramos dois tipos básicos de área na superfície do espécimens experimental. Um tipo está ilustrado na Fig. 35, que mostra uma área plana, homogênea, apesar da presença de certas impurezas superficiais, apresentando os sinais das cerdas da escova tipo Robinson, usada para a profilaxia. Considerando o efeito da limpeza mecânica, a superfície assemelha-se àquela da Fig. 1. O outro tipo de área está ilustrado na Fig. 36, que mostra uma superfície aparentemente menos polida, apesar de se apresentar um tanto homogênea e plana, e com sinais da limpeza mecânica. O estudo em

maior aumento revelou, entretanto, uma semelhança entre as duas áreas, mostrando uma superfície lisa (Figs. 37 e 38).

No voluntário V5, encontramos um dos aspectos mais interessantes do grupo experimental. A Fig. 39 mostra a visão da superfície num aumento pequeno, que dá a impressão de que houve um leve ataque cariogênico na superfície, de uma maneira homogênea. Entretanto, o exame em maior aumento, em qualquer ponto da superfície, mostrou que, na verdade, se tratava de uma superfície totalmente tomada pela formação de depósitos calcificados, aplanados provavelmente pela ação das limpezas semanais, os quais pareciam cobrir preferencialmente a dentina intertubular (Fig. 40). Com um aumento ainda maior, pode-se notar que os depósitos calcificados também se formaram sobre a dentina peritubular, e que, em algumas áreas, a entrada dos túbulos dentinários encontrava-se obstruída por estes depósitos (Fig. 41). O exame espectroscópico mostrou que o depósito era principalmente formado por cálcio, alumínio e fósforo (Fig. 42). O alumínio é provavelmente remanescente do produto usado na fase final do polimento (alumina a 1 $\mu$ m). O espécimen experimental do V6 também apresentou o mesmo aspecto, com relação à presença de depósitos calcificados.

No voluntário V7, a superfície do espécimen experimental mostrou-se bastante lisa e homogênea, exceto em pequenas áreas localizadas que representaram defeitos produzidos durante o preparo do espécimen, como pode ser visto na Fig. 43. Nesta área é possível detectar pequenos depósitos calcificados isolados. Um exame com maior aumento do depósito, visto na Fig. 43, revelou o padrão bastante reticulado desta formação e a presença de delicadas extensões calcificadas perifericamente à estrutura principal (Fig. 44). É interessante que, no canto inferior esquerdo desta figura, pode-se notar a presença de depósito calcificado com um aspecto pouco reticulado, que provavelmente



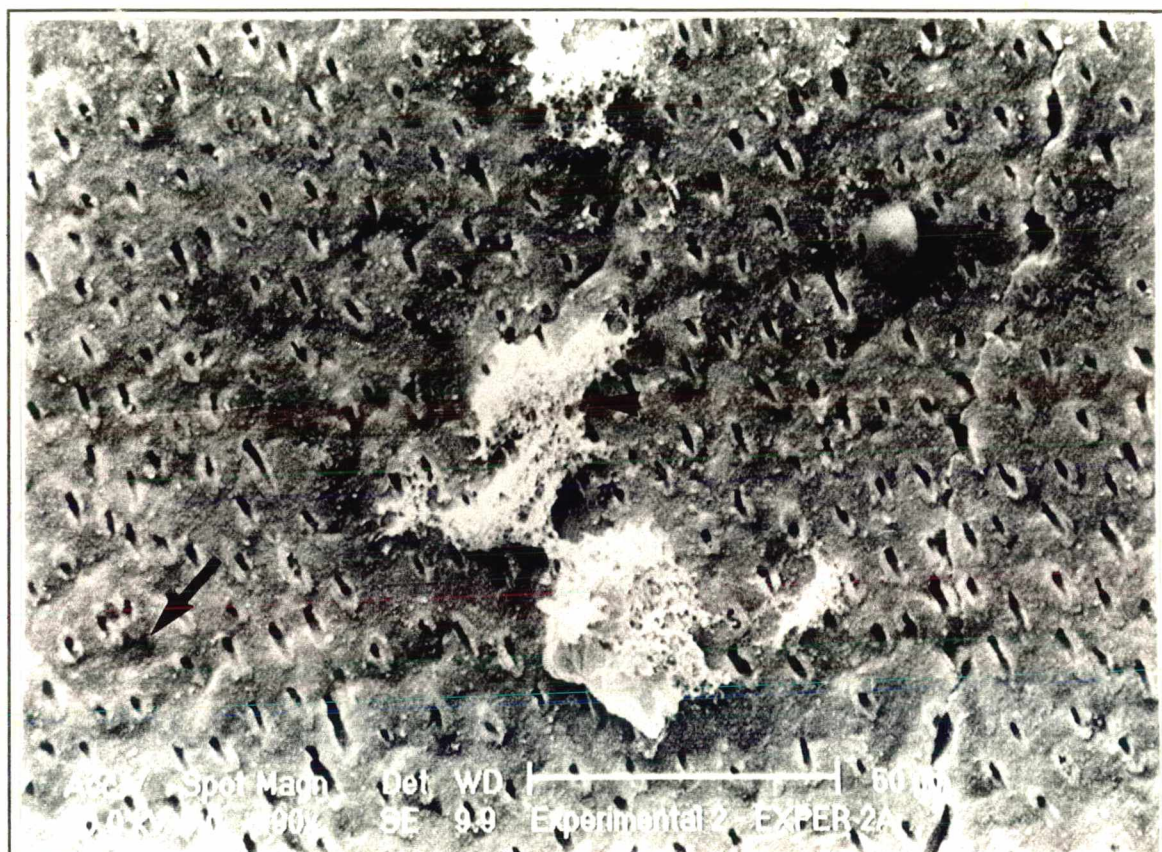


Fig. 31 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 2 - com aumento de 490 vezes, mostrando uma superfície relativamente plana, porém com algumas microescaras localizadas (setas), causadas pelo desafio cariogênico, e depósitos de cálculo dental na parte central (cabeça de seta).

f:\odontofredericexper2.spc

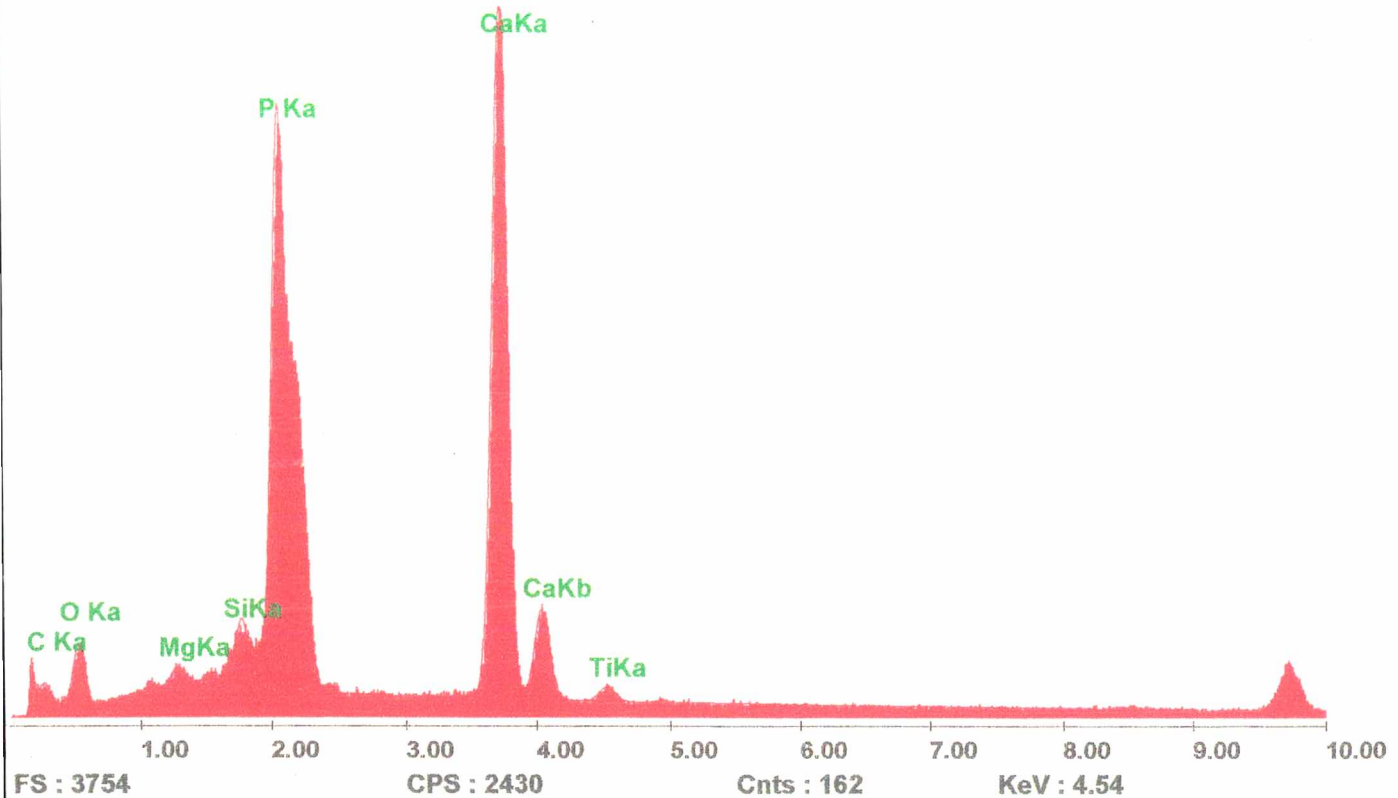
Label:Experimental 2

Prst:100L

Lsec:100

15:38:21

3-8-96



Standardless, Elements

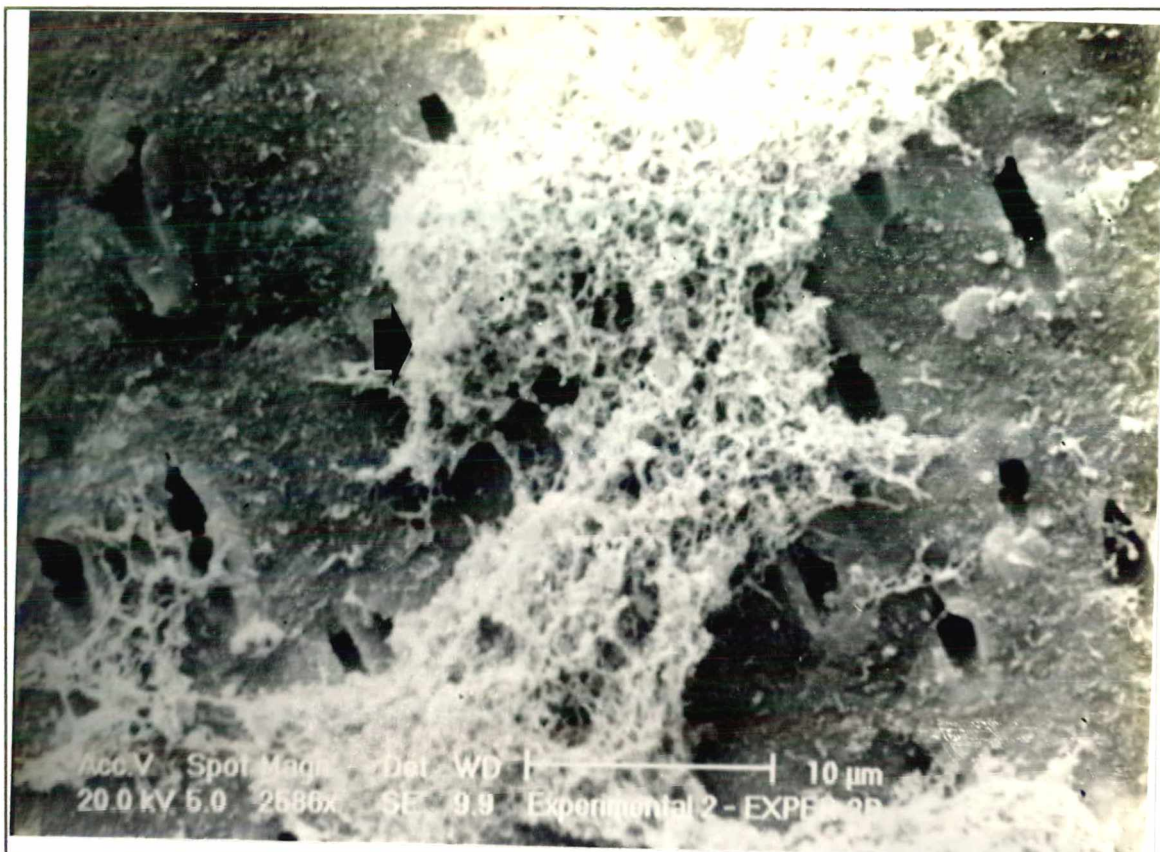
PEI Default Set : 1

Element	K Ratio	Weight %	Atomic %
C K	0.0041	0.407	1.130
O K	0.0656	6.563	13.676
MgK	0.0090	0.896	1.229
SiK	0.0251	2.515	2.985
P K	0.2723	27.233	29.313
CaK	0.6071	60.715	50.504
TiK	0.0167	1.671	1.163
Total		100.000	100.000

Element	Net Inten	Backgrd	Inten Error	P/B
C K	8.74	7.10	4.55	1.23
O K	24.60	7.90	2.32	3.11
MgK	8.22	19.49	6.40	0.42
SiK	30.04	19.61	2.35	1.53
P K	289.93	18.41	0.61	15.75
CaK	397.69	13.64	0.51	29.16
TiK	8.61	12.74	5.37	0.68

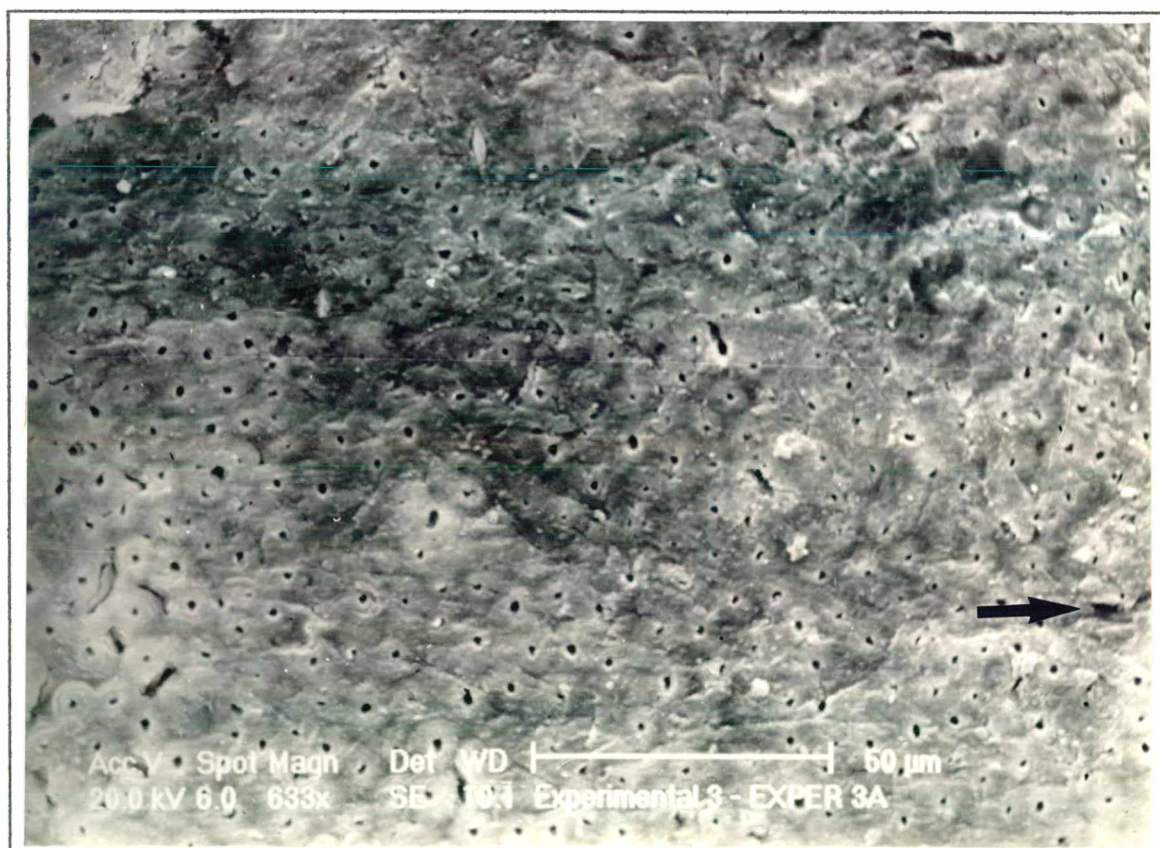
Fig. 32 - Análise espectroscópica de depósito calcificado visto na Fig. 31. Os principais picos representam cálcio e fosfato. Magnésio, silício, titânio, oxigênio e carbono também foram detectados.





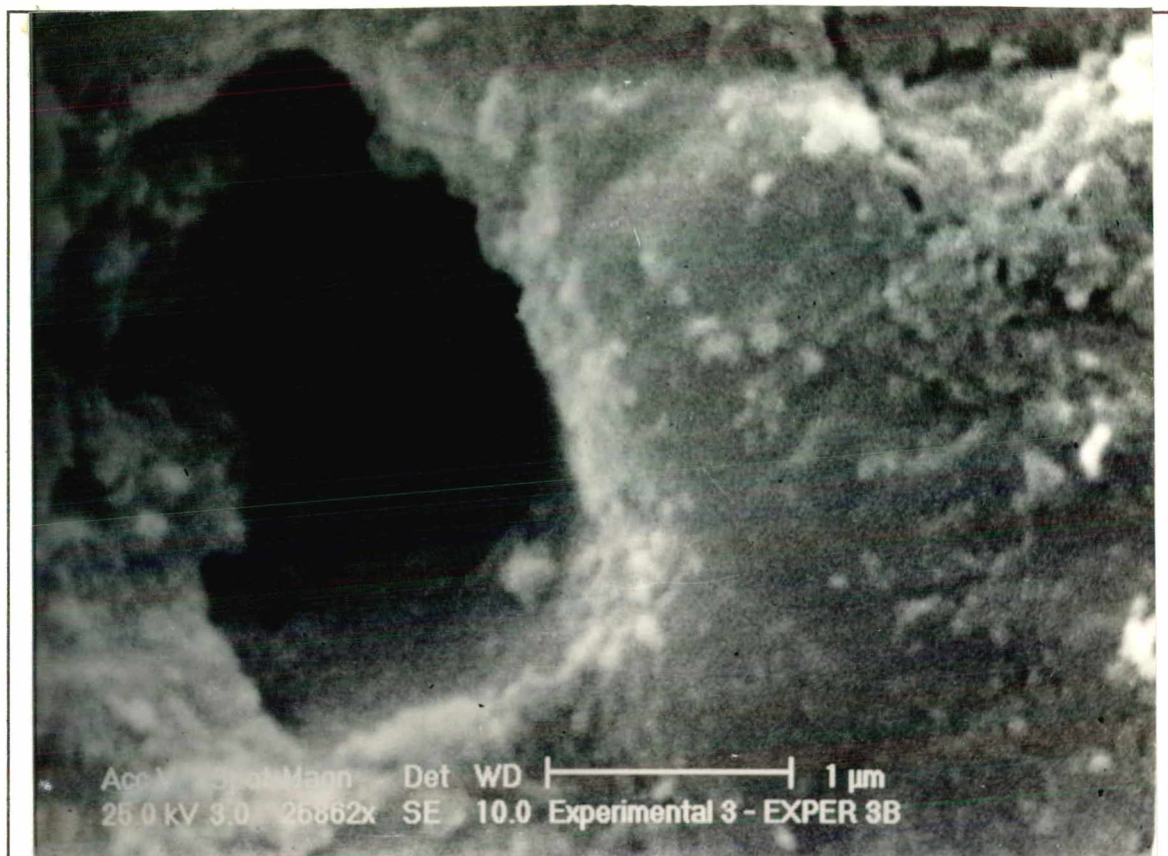
Figs. 33 (em cima) e 34 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen experimental - voluntário 2 - com aumento de 2.586 vezes (Fig. 33) e 25.862 (Fig. 34). A Fig. 33 mostra o depósito calcificado (seta) visto na Fig. 31, e a Fig. 34 mostra várias formações calcificadas mais delicadas nas áreas adjacentes a este (seta).





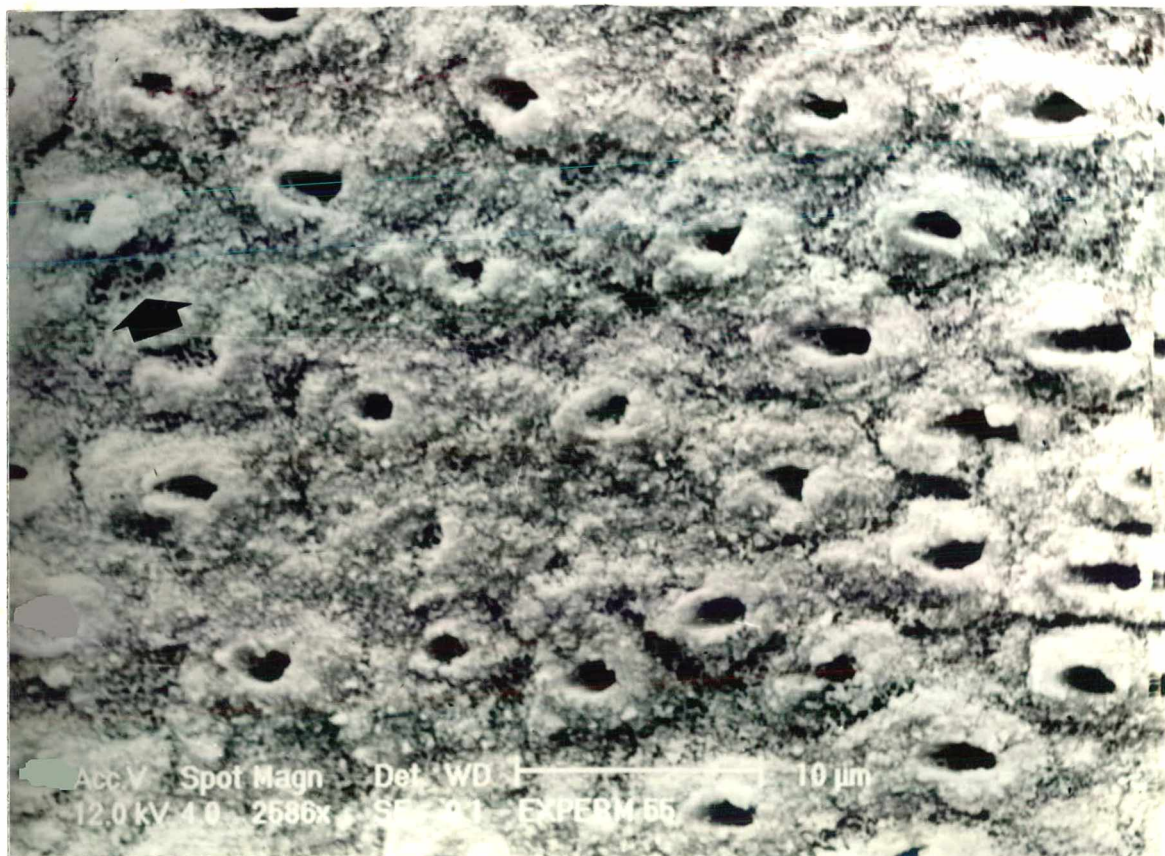
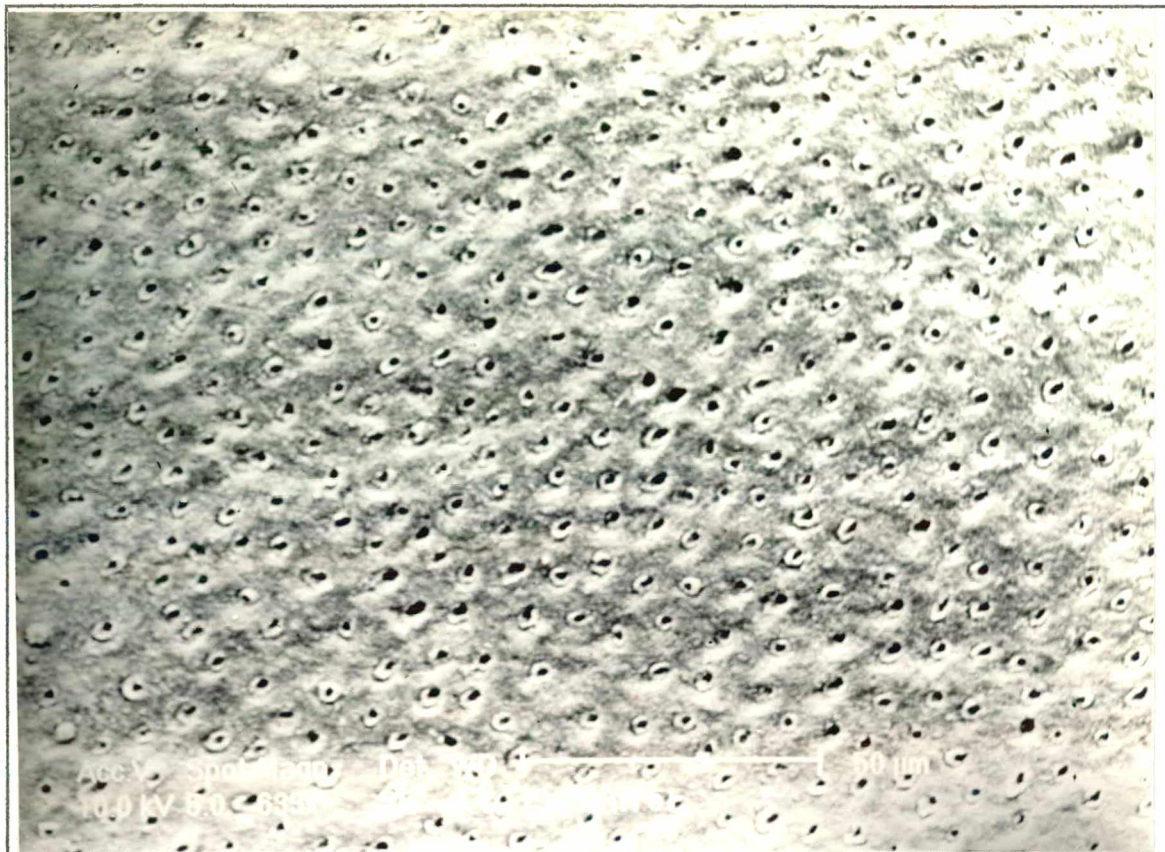
Figs. 35 (em cima) e 36 (em baixo) -. Fotomicrografias de espécimen experimental - voluntário 3 - com aumento de 633 vezes. A Fig. 35 mostra uma superfície plana, sem evidência de dissolução superficial, e com marcas da abrasão causada pela profilaxia semanal (seta). A Fig. 36 mostra uma outra área em que se podem observar microescaras localizadas (setas).





Figs. 37 (em cima) e 38 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen experimental - voluntário 3 - com aumento de 25.862 vezes. A Fig. 37 mostra detalhes da superfície dentinária vista na Fig. 35, apresentando poucas porosidades. A Fig. 38 mostra detalhes da superfície dentinária vista na Fig. 36, sendo semelhante àquela vista na Fig. 37.





Figs. 39 (em cima) e 40 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen experimental - voluntário 5 - com aumento de 633 vezes (Fig. 39) e 2.586 (Fig. 40). A Fig. 39 mostra uma superfície plana e lisa. A Fig. 40 mostra que esta superfície dentinária está totalmente coberta por cálculo dental (seta).



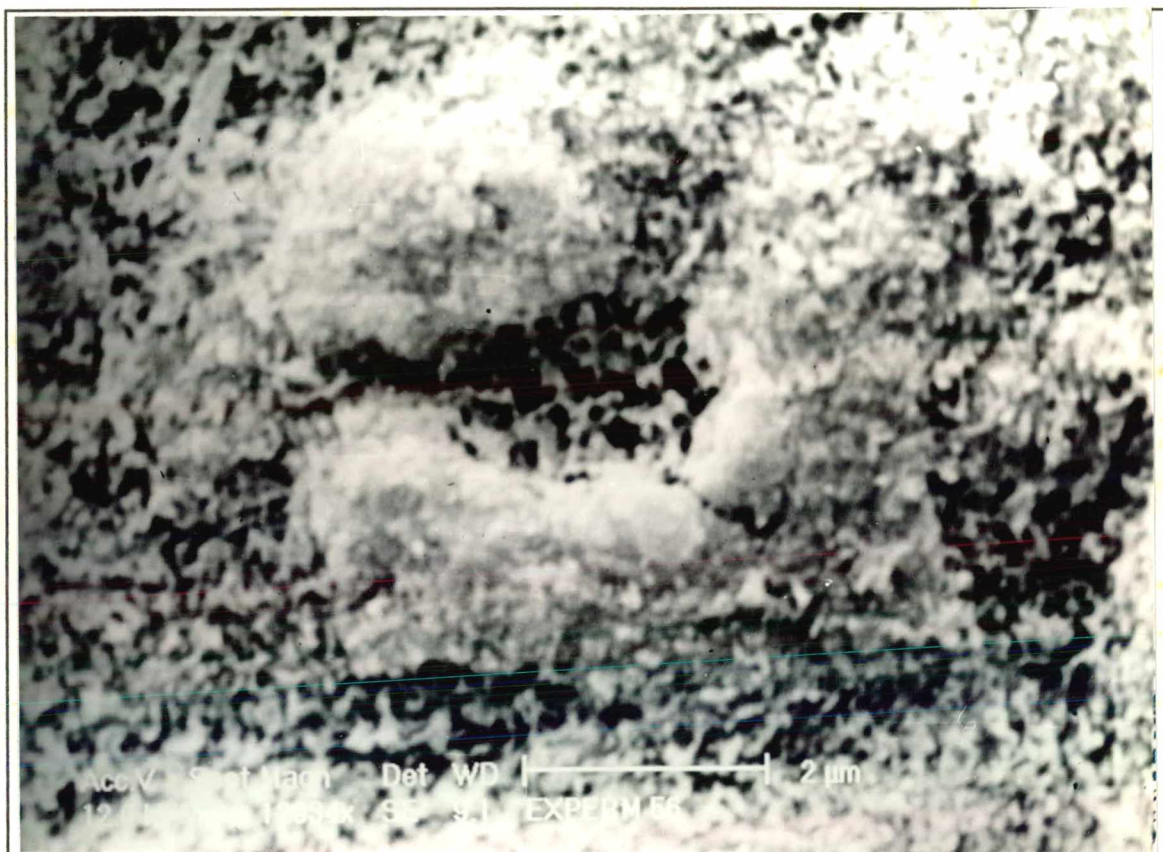


Fig. 41 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 5 - com aumento de 12.934 vezes da superfície vista na Fig. 40, mostrando um túbulo dentinário com sua entrada parcialmente obstruída por cálculo dental, que também cobre toda a superfície dentinária.

e:\odontofrederic\exper5.spc

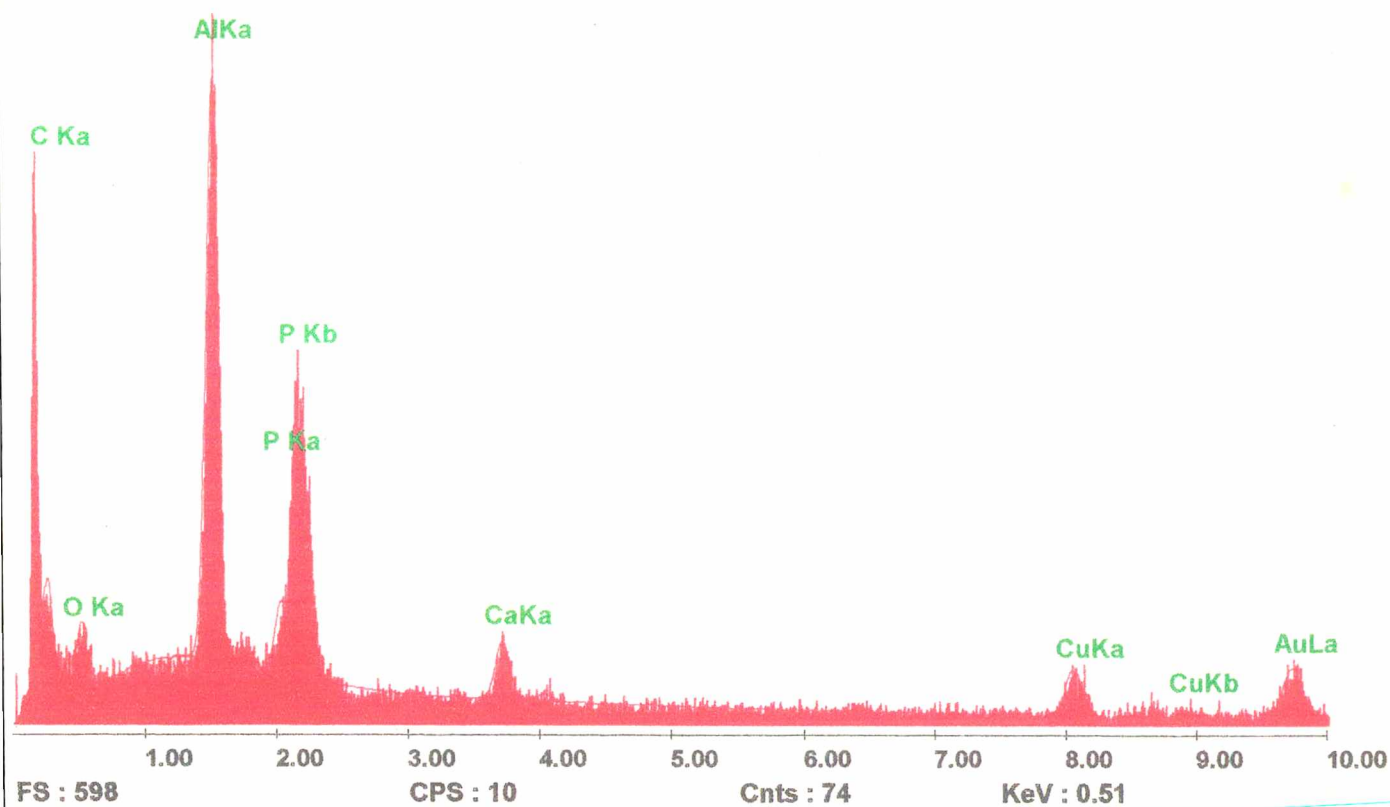
Label:Depósito Calcificado

Prst:100L

Lsec:100

15:16:20

11-21-95



Standardless, Elements

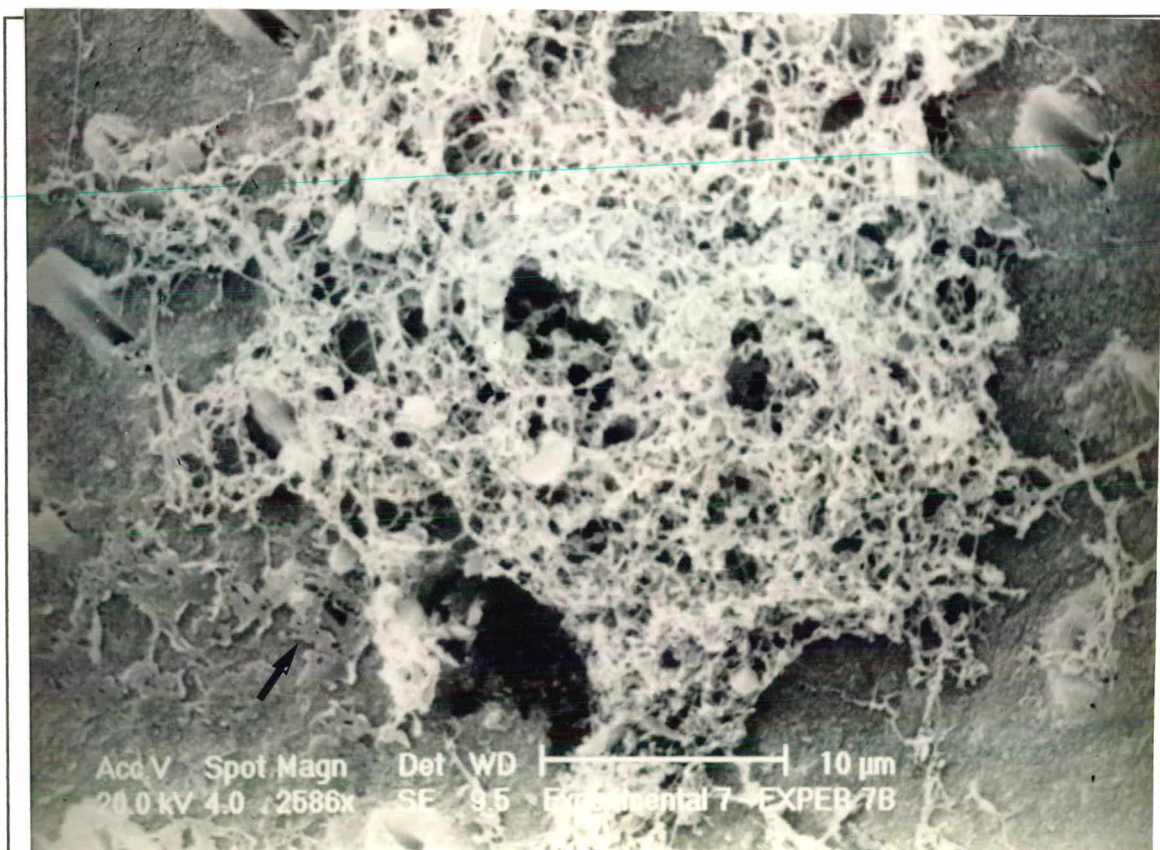
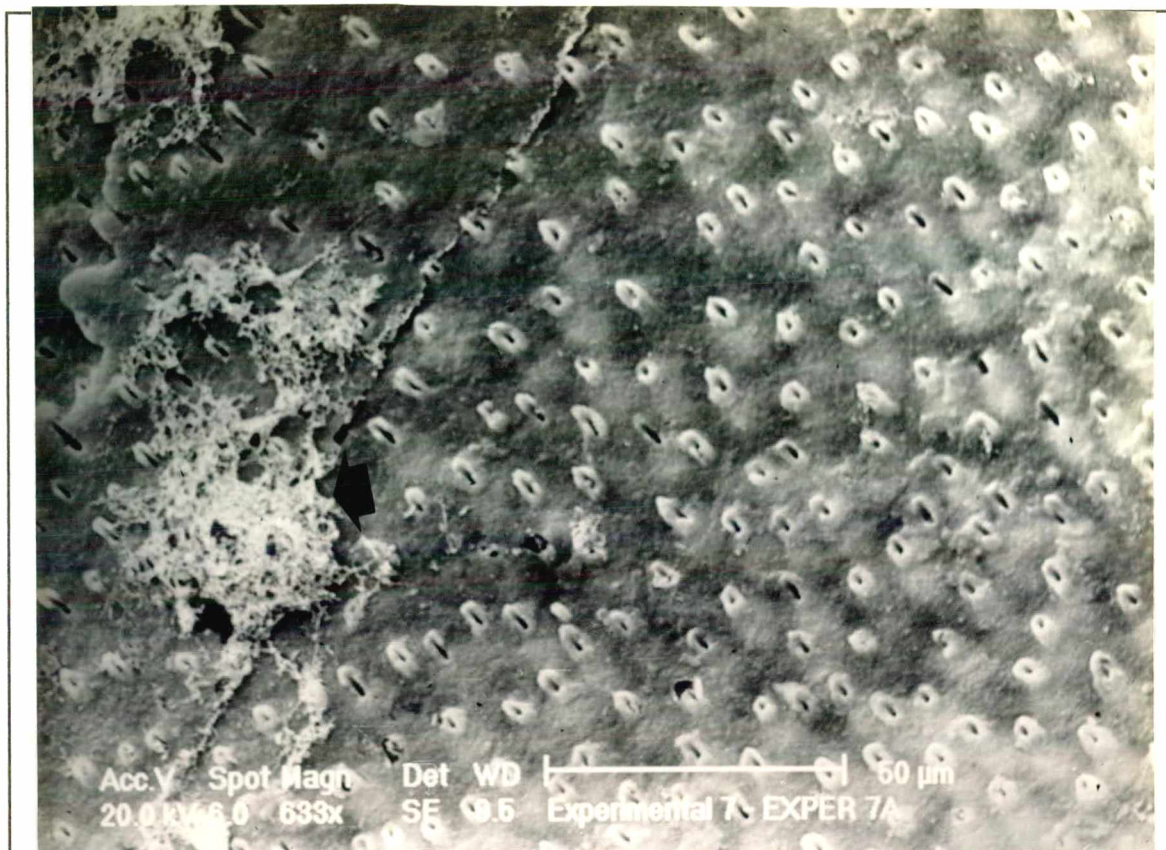
PEI Default Set : 1

Element	K Ratio	Weight %	Atomic %
C K	0.0178	1.778	8.772
O K	0.0574	5.737	21.252
AlK	0.1534	15.343	33.701
P K	0.0203	2.030	3.885
CaK	0.0280	2.797	4.136
CuK	0.1028	10.279	9.587
AuL	0.6204	62.037	18.667
Total		100.000	100.000

Element	Net Inten	Backgrd	Inten Error	P/B
C K	7.34	2.80	4.34	2.62
O K	4.59	2.80	5.92	1.64
AlK	44.65	6.74	1.61	6.62
P K	5.67	5.26	5.83	1.08
CaK	5.30	2.94	5.42	1.80
CuK	6.67	0.00	3.87	6.67
AuL	7.32	0.00	3.70	7.32

Fig. 42 - Análise espectroscópica do depósito calcificado visto na Fig. 41. Os principais picos representam alumínio, carbono, fosfato, oxigênio e cálcio.





Figs. 43 (em cima) e 44 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen experimental - voluntário 7 - com aumento de 633 vezes (Fig. 43) e 2.586 vezes (Fig. 44). A Fig. 43 mostra uma superfície plana e lisa, sem sinais de dissolução, e com um depósito de cálculo dental na parte central esquerda (seta). Este depósito apresenta um aspecto bastante reticulado e formações baixas, semelhantes a placas, nas áreas adjacentes (Fig. 44, seta).



não seria detectado caso não apresentasse uma conexão com extensões que partem do depósito maior adjacente. A análise espectroscópica da estrutura focalizada na Fig. 44 revelou que os elementos cálcio e fósforo eram seus principais componentes (Fig. 45). Seguindo-se com o exame do espécimen, uma visão direta, em maior aumento, da superfície dentinária revelou que seu aspecto era bastante semelhante àquele dos espécimens polidos (Fig. 46, compare com Fig. 4).

No voluntário V8, encontramos o maior padrão de desmineralização observado dentre os espécimens experimentais. Na Fig. 47, pode-se notar o socavamento presente em todas as entradas dos túbulos, que é decorrente de uma dissolução maior da dentina intertubular. Entretanto, a superfície mostra-se homogênea e plana, sem a presença de microcavidades que possam conter mais de um túbulo dentinário (Fig. 48). O exame em maior aumento mostra que as irregularidades causadas pela desmineralização foram polidas (Fig. 49), e cada micrômetro de área, mesmo dentro das socavações criadas na dentina intertubular, apresenta-se, em grande aumento, bastante semelhante ao aspecto, no mesmo aumento, de espécimens polidos (Fig. 50, compare com a Fig. 4), e bem diferentes do aspecto dos espécimens do grupo-controle (compare a Fig. 49 com a Fig. 30, e a Fig. 50 com a Fig. 6). Um grau semelhante de dissolução também foi observado no voluntário 9.

Na tabela 3 pode-se ver a frequência de desmineralização, de abrasão, e de cálculo dental nos grupos experimental e controle. No GE, quatro dos dez espécimens mostraram formação de cálculo dental; três espécimens mostraram sinais de desmineralização, sendo que em dois não foi possível o exame direto da superfície dentinária e todos os espécimens mostraram sinais de abrasão. No GC, todos os espécimens mostraram sinais de desmineralização, sete mostraram formação de cálculo dental e nenhum apresentou sinal de abrasão.

f:\odonto\frederic\exper7.spc

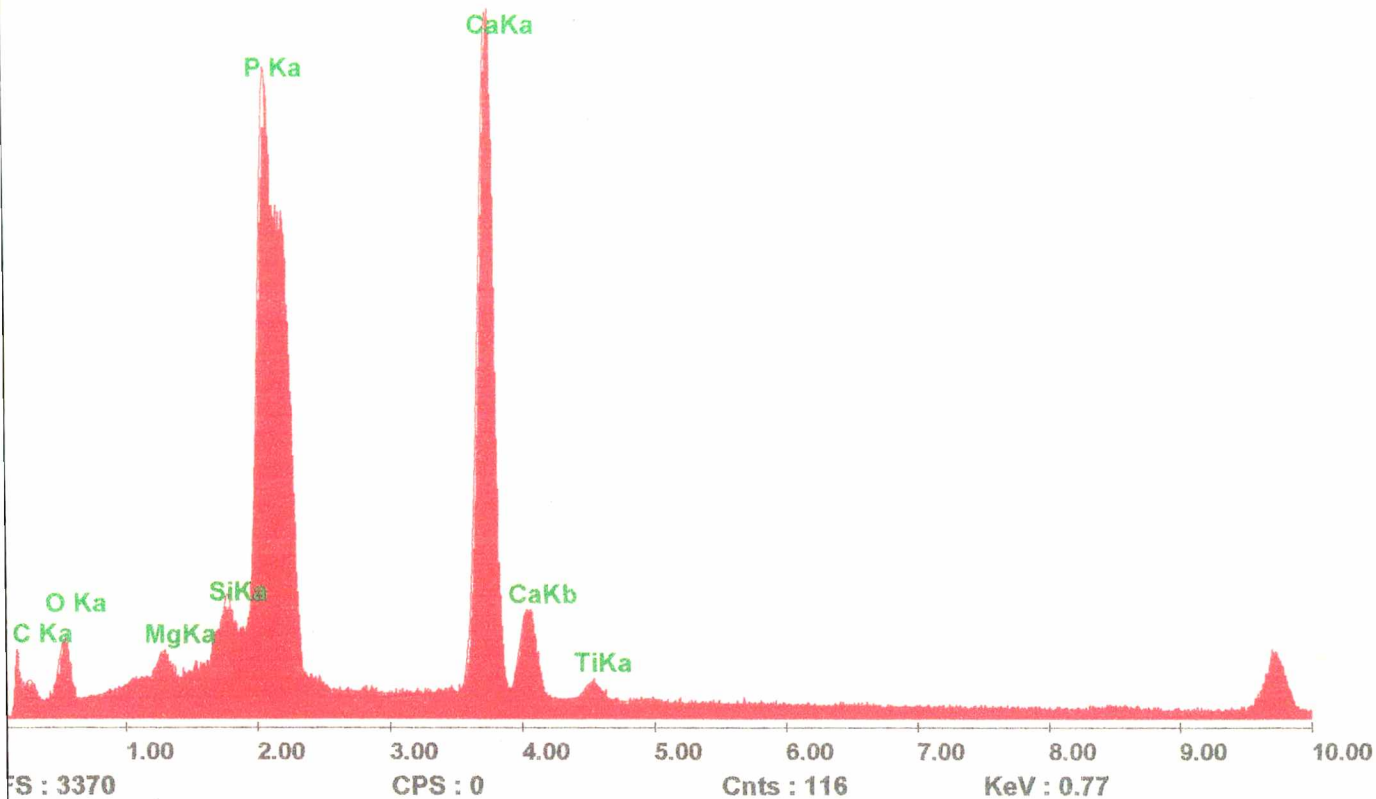
Label:Experimental 7

Prst:100L

Lsec:100

16:05:24

3-8-96



Standardless, Elements

PEI Default Set : 1

Element K Ratio Weight % Atomic %

Element	K Ratio	Weight %	Atomic %
C K	0.0041	0.412	1.134
O K	0.0673	6.729	13.898
MgK	0.0140	1.400	1.902
SiK	0.0326	3.260	3.836
P K	0.2802	28.025	29.899
CaK	0.5808	58.082	47.888
TiK	0.0209	2.093	1.444
Total		100.000	100.000

Element Net Inten Backgrd Inten Error P/B

Element	Net Inten	Backgrd	Inten Error	P/B
C K	8.19	7.70	4.87	1.06
O K	23.34	7.80	2.39	2.99
MgK	11.88	19.94	4.75	0.60
SiK	36.04	19.29	2.06	1.87
P K	276.11	18.35	0.62	15.05
CaK	352.08	14.14	0.54	24.90
TiK	9.98	12.90	4.79	0.77

Fig. 45 - Análise espectroscópica do depósito calcificado visto na Fig. 44. Os principais picos representam cálcio e fósforo.

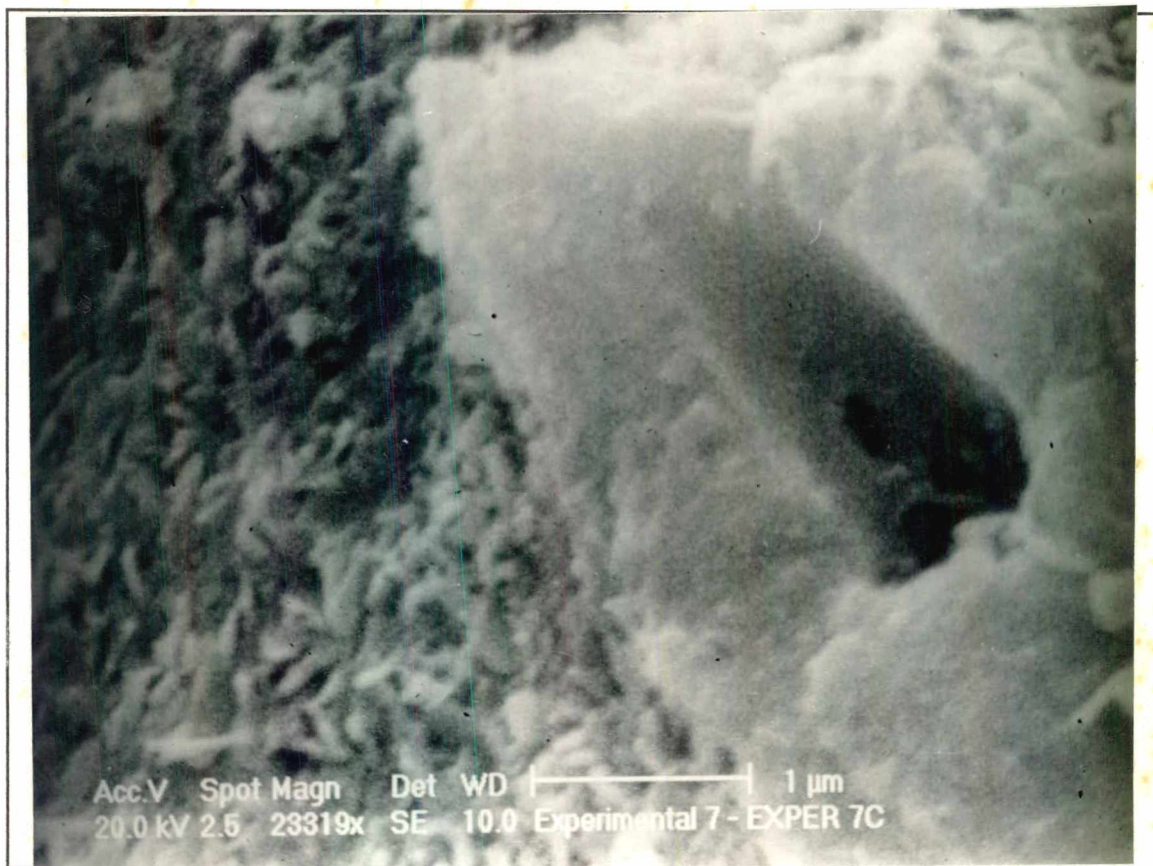
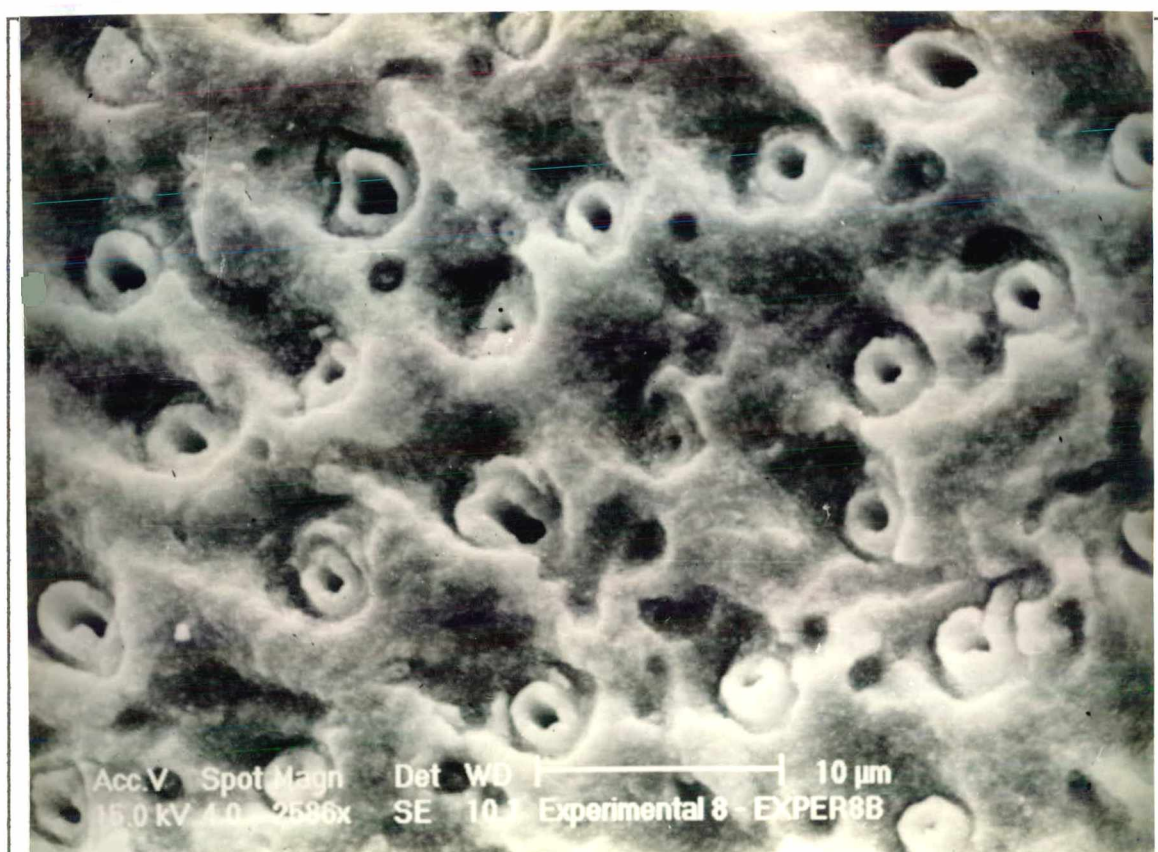
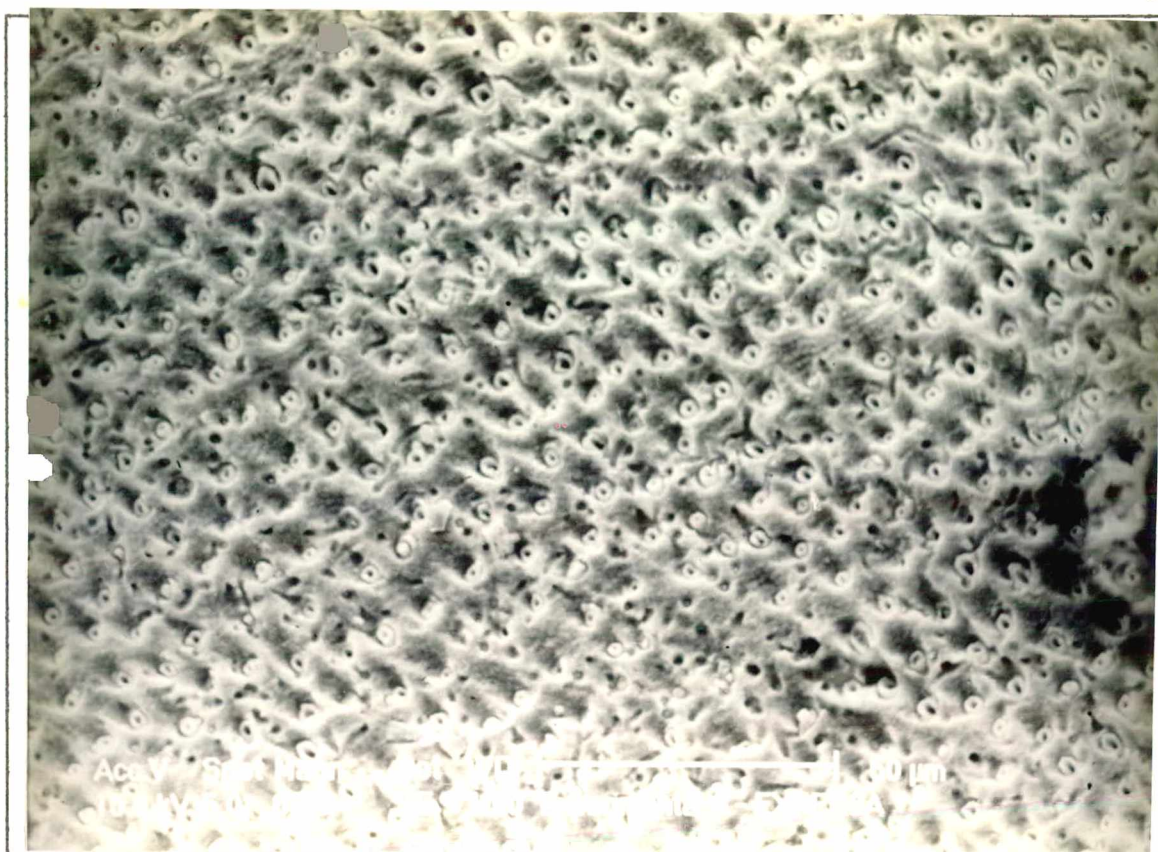


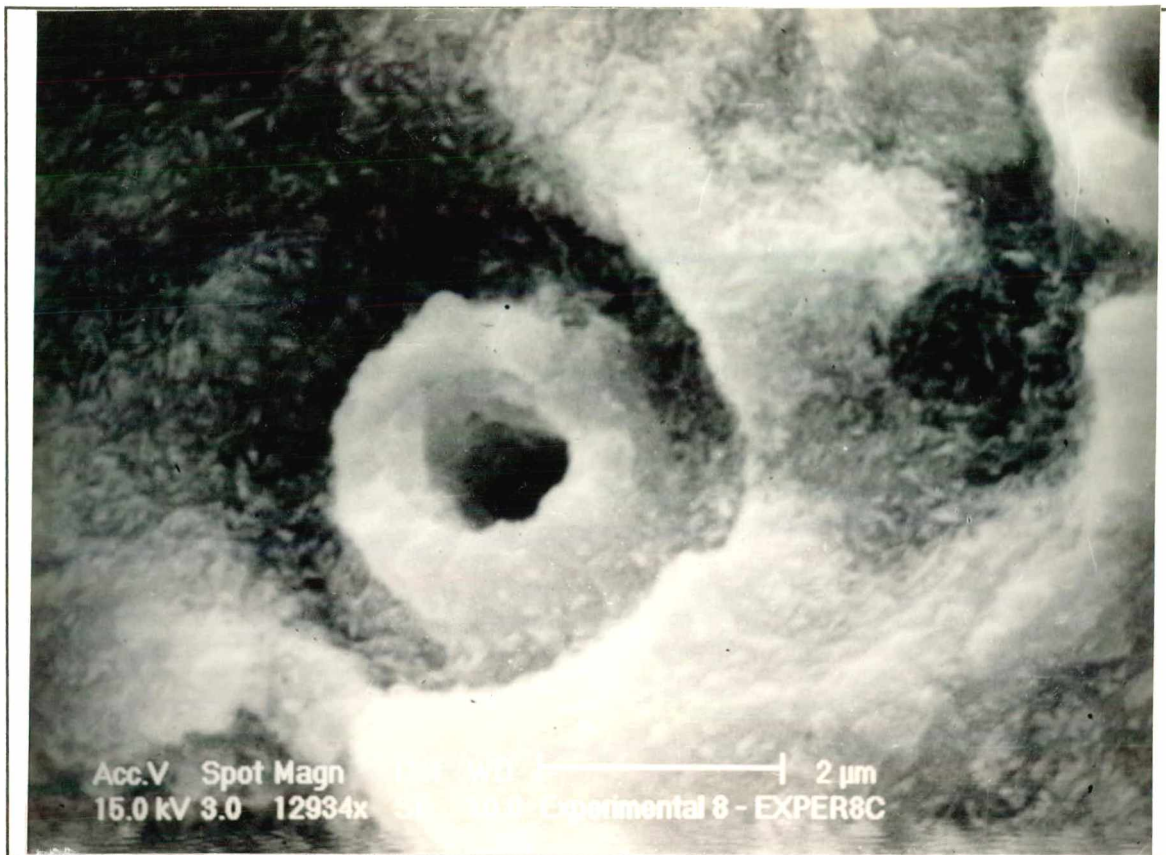
Fig. 46 - Fotomicrografia de espécimen experimental - voluntário 7 - com aumento de 23.319 vezes, mostrando ausência de dissolução cariiosa na dentina que não estava coberta por cálculo dental.





Figs. 47 (em cima) e 48 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen experimental - voluntário 8 - com aumento de 633 vezes (Fig. 47) e 2.586 vezes (Fig. 48). A Fig. 47 mostra uma superfície plana e relativamente homogênea, porém com sinais de dissolução causada pelo desafio cariogênico, que afetou, de maneira bastante regular, toda a superfície dentinária (Fig. 48).





Figs. 49 (em cima) e 50 (em baixo) - Fotomicrografias de espécimen experimental - voluntário 8 - com aumento de 12.934 vezes (Fig. 49) e 38.814 vezes (Fig. 50), mostrando detalhes da dissolução cariosa da superfície dentinária. A Fig. 50 mostra um grau muito baixo de porosidades neste nível de exame.



Tabela 3 - Frequência de desmineralização, de cálculo dental e de abrasão nos grupos controle e experimental, observados na análise fotográfica do MEV.

Achado	Desmineralização	Cálculo Dental	Abrasão
GC 1	+	-	-
GE 1	+	-	+
GC 2	+	+	-
GE 2	-	+	+
GC 3	+	+	-
GE 3	-	-	+
GC 4	+	-	-
GE 4	-	-	+
GC 5	+	-	-
GE 5	?	+	-
GC 6	+	+	-
GE 6	?	+	+
GC 7	+	+	-
GE 7	-	+	+
GC 8	+	+	-
GE 8	+	-	+
GC 9	+	+	-
GE 9	+	-	+
GC 10	+	+	-
GE 10	-	-	+

## **6 DISCUSSÃO**

Neste estudo foi mostrado que todos os espécimens do grupo-controle apresentaram desenvolvimento de lesão cariiosa e que, no grupo experimental, muitos espécimens não apresentaram sinais definitivos de lesão cariiosa, porém alguns revelaram ter passado por uma desmineralização.

O modelo escolhido para este estudo foi o chamado modelo *in situ*, que consiste no uso de aparelhos de acrílico ou de outros dispositivos que criem condições definidas na cavidade bucal humana para estimular o processo cariioso (Zero, 1995). Este modelo foi escolhido em virtude da grande dificuldade prática de se trabalhar com dentina num modelo *in vivo* da doença cárie, que resultaria em muito desconforto para os voluntários. Pelo conhecimento dos pesquisadores, apenas um estudo trabalhou com dentina num modelo *in vivo* da doença cárie (Von Der Fehr, 1970). O modelo *in situ* usado foi baseado no modelo proposto por Ögaard, Rölla, Arends (1988a), com pequenas modificações técnicas, quais sejam: a tira de banda ortodôntica foi substituída por uma tira de matriz de aço; o espaço para o acúmulo de placa dental foi aumentado de 1 mm para entre 1 e 2 mm; não foi usado o retentor de Hawley e a parte de acrílico que cobriu o palato se estendeu da mesial do primeiro premolar superior até a distal do primeiro molar permanente superior. A segunda modificação foi em decorrência da dificuldade de estabelecer, de maneira precisa, um espaço de 1 mm para acúmulo de placa dental,

usando-se a tira de matriz de aço - que é mais flexível que a banda ortodôntica - durante todo o período experimental, quando as tiras dos espécimens experimentais foram removidas e reinsertadas várias vezes.

Outras modificações foram feitas no protocolo clínico de uso do aparelho palatal removível (APR). Para se obter melhor colaboração por parte dos voluntários, o tempo de uso do APR foi reduzido de 24 horas por dia (do estudo original) para o maior período de tempo possível durante o dia, com exceção dos períodos das refeições e da realização dos procedimentos de higiene bucal. Em virtude desta modificação, que acarretaria numa reduzida quantidade de nutrientes para a formação da placa dental sobre os espécimens, em relação ao projeto original, cada voluntário recebeu um recipiente com 50 ml de uma solução de sacarose a 50%, para ser aplicada quatro vezes por dia em cada espécimen, a fim de substituir os alimentos ingeridos durante as refeições. Esta solução usada foi escolhida com base no estudo clássico de Von Der Fehr, Løe, Theilade (1970), que também usaram a mesma solução.

Os resultados da análise estatística dos escores de placa dental revelaram que não houve diferenças estatisticamente significantes tanto entre as médias dos escores de cada voluntário, como nas médias dos escores obtidos em semana entre os diferentes voluntários. Isto mostra que o método é eficaz para produzir placa dental espessa (escore igual ou maior a 2), que é a placa dental cariogênica (Carvalho, Ekstrand, Thylstrup, 1989, 1991; Carvalho, Thylstrup, Ekstrand, 1992; Thylstrup, Fredebo, 1982; Holmen, Thylstrup, 1984). Entretanto, em algumas situações, foi dado o escore 1, que corresponde a placa dental fina, revelando, assim, a influência da colaboração do voluntário neste tipo de estudo. Nestas situações, os respectivos voluntários revelaram não ter usado o APR



adequadamente durante a semana anterior, o que deve ser considerado em estudos que aplicam esse modelo.

Com relação à espessura da placa dental a ser formada sobre os espécimens em modelos *in situ*, estudos recentes têm gerado críticas a modelos que permitem uma espessura grande de placa dental. Zero et al. (1992) avaliaram o potencial de uma placa dental com glucan e de outra sem glucan na desmineralização *in situ* do esmalte. Para a placa dental com glucan, espessuras entre 0 e 1 mm não mostraram diferença na resposta e uma diferença de apenas 12% foi detectada para uma espessura de 1,5 mm. A placa sem glucan se mostrou mais sensível à variação de espessura, mostrando uma variação de, aproximadamente, 20% na resposta nos primeiros 0,5 mm de espessura. Posteriormente, Zero (1995) verificou que para a placa dental sem glucan, o aumento da espessura da placa de 0,5 mm para 1,5 mm resultou em redução da desmineralização, enquanto que o oposto ocorreu para a placa dental com glucan. Com base nestes dados, Zero (1995) e Wefel (1995) recomendam o controle da espessura da placa nos modelos *in situ* da doença cárie, porém Wefel (1995) questiona a necessidade de controle nos casos em que a espessura da placa não exceda 2 mm.

No modelo empregado, criou-se um espaço de 1 a 2 mm para a formação de placa dental. Esta medida foi escolhida com base no modelo original de Ögaard, Rølla, Arends (1988a), que usaram uma medida de 0,8 mm, no tipo de material usado para a proteção dos espécimens - tira de matriz de aço - e no protocolo clínico. Substituímos a banda ortodôntica pela tira de matriz de aço para atenuar o traumatismo causado na mucosa do dorso da língua que é freqüente com o uso deste modelo. Por ser a matriz mais maleável que a banda ortodôntica, o espaço deixado não pode ser muito estreito, pois a pressão da língua pode diminuir estes espaço por pressão. Doutra parte, como a proteção

seria removida e recolocada semanalmente nos espécimens experimentais, a manutenção de um espaço estreito, estritamente definido durante todo o período de estudo, seria bastante difícil. Por estas razões, escolheu-se estipular uma escala de medidas - de 1 a 2 mm - para a formação de placa dental. Como os espécimens receberam aplicações diárias de solução de sacarose a 50% e, certamente, a placa dental que se formou possuía glucan, em grande quantidade, o emprego dessa espessura de placa dental está de acordo com as recomendações atuais (Wefel, 1995; Zero, 1995).

Conforme as análises em MEV, os espécimens polidos mostraram-se com uma superfície plana, lisa e homogênea, podendo-se notar os limites entre as dentinas peri e intertubular (Figs. 1, 2, e 3). Os procedimentos de polimento empregados nos espécimens garantem a obtenção de uma superfície lisa e plana. Na Fig. 4 se tem uma visão em grande aumento, englobando as dentinas peri e intertubular. Nesta figura, podem-se notar os cristais de hidroxiapatita da dentina intertubular, em aspecto fibrilar, e a estrutura mais compacta da dentina peritubular.

Este aspecto de espécimen polido foi usado para fins de comparação com os espécimens dos grupos controle e experimental, após terem passado pelo período *in situ*.

Os resultados do grupo-controle mostraram que todos os espécimens desenvolveram desmineralização durante o período *in situ*, o que, mais uma vez, prova a efetividade do modelo para produzir lesões cariosas. A desmineralização foi demonstrada como dissolução direta da superfície dos espécimens (Figs. 9, 11, 16, 20 e 25). Este achado está de acordo com os dados de estudos que mostraram, em esmalte dental humano, que a lesão cariiosa é caracterizada pela erosão da superfície do tecido dental duro na cavidade bucal (Ärtun, Thylstrup, 1986; Holmen, Thylstrup, 1984; Holmen et al., 1985b; Holmen et

al., 1986; Holmen, Thylstrup, Årtun, 1987a e 1987b; Holmen 1987; Holmen et al. 1988; Thylstrup, Fredebo, 1982 e Thylstrup et al., 1990). Holmen et al. (1985a) mostraram que a erosão superficial precede a dissolução subsuperficial, sendo a primeira a consequência mais precoce do desafio cariogênico sobre o tecido dental duro. Pelo conhecimento dos pesquisadores, esta é a primeira vez que se registra a erosão dentinária, em consequência da ação de placa dental cariogênica, na cavidade bucal de humanos. Este critério de detecção de lesão cariosa é bastante sensível, uma vez que a dissolução superficial do tecido dental duro consiste no estágio mais precoce da lesão cariosa.

O grau de dissolução superficial variou entre os espécimens, nos voluntários, e não teve relação com as variações inter-individuais registradas nos escores de placa dental dos espécimens-controle. As variações inter-individuais são uma característica marcante de estudos clínicos relativos à doença cárie. Ademais, neste tipo de experimento, em que o tecido dental fica colocado num aparelho removível, deve-se considerar que parte das variações inter-individuais são decorrentes das variações no uso dos aparelhos pelos voluntários. Portanto, podem não representar a verdadeira taxa natural de progressão de lesão cariosa nestes indivíduos.

Os dados mais interessantes e surpreendentes, obtidos do grupo-controle, foram, sem dúvida, relativos à presença de depósitos calcificados, representando cálculo dental, nos mesmos locais das lesões cariosas. Tal fato torna-se ainda mais interessante, por ocorrer em lesões cariosas ativas, cobertas por massas espessas de placa dental, que recebiam quatro aplicações diárias de uma solução de sacarose a 50%! Portanto, o ambiente era muito acidogênico, o que é, de acordo com os conhecimentos atuais, definitivamente desfavorável à deposição de sais de fosfato de cálcio para a formação desses depósitos de cálculo dental.

A morfologia dos depósitos calcificados detectados em qualquer espécimen do nosso estudo é idêntica àquela relatada em outros estudos ultra-estruturais de cálculo dental (Friskopp, Hammarström 1980 e Sakae, Yamamoto, Hirai, 1985). As análises com espectroscopia revelaram que a composição destes depósitos era dominada por cálcio e fosfato, o que está de acordo com a composição química do cálculo dental, a qual consiste entre 70% e 80% de sais inorgânicos, sendo o cálcio e o fósforo os principais elementos com uma relação Ca/P variando de 1,66 até mais de 2 (Leung, Jensen, 1958; Little, Casciani, Rowley, 1963; Schroeder, 1963). Também se podem encontrar pequenas quantidades de magnésio, sódio, carbonato e fluoreto (Theilade, Schroeder, 1966 e Huang et al., 1996).

Vários estudos relataram a presença de cálculo dental no mesmo local de uma lesão cariosa ativa: em esmalte de elementos dentais de indivíduos que residiam em áreas com água fluoretada (Holmen, 1987; Thylstrup et al., 1990) e em cemento e dentina radicular de elementos dentais extraídos de pacientes sem controle sobre o uso de fluoretos (Schüpbach, Guggenheim, Lutz, 1989; Schüpbach, Guggenheim, Lutz, 1990b). As lesões estudadas por Holmen (1987), Schüpbach, Guggenheim, Lutz (1989) e Schüpbach, Guggenheim, Lutz (1990b) não eram de história conhecida, isto é, não se sabia há quanto tempo estavam presentes nos elementos dentais.

Furseth, Johansen (1968), num estudo de radiomicrografia de lesões cariosas de cemento, também relataram a ocorrência simultânea, no mesmo sítio dental, de lesão cariosa e cálculo dental; porém, estes autores não relatam se as lesões cariosas eram ativas ou inativas.

Takuma et al. (1967) e Takuma et al. (1969), em estudos ultra-estruturais em lesões cariosas dentinárias, relataram a presença de bactérias calcificadas na zona de



infecção (mais superficial) das lesões. Todavia, nenhum dos estudos fez menção sobre a atividade das lesões. Doutra parte, o estudo de Takuma et al. (1967) analisou lesões dentinárias oclusais presentes no fundo de cavidades retentivas, o que leva a crer que as lesões estudadas eram ativas. Tal fato também torna este estudo peculiar, no sentido de que é pouco provável que o depósito de cálculo dental tenha estado naquela superfície dental antes do desenvolvimento da lesão cariosa, indicando que o cálculo dental representava uma formação recente. Nos demais estudos histopatológicos (Holmen 1987; Schüpbach, Guggenheim, Lutz, 1989; Schüpbach, Guggenheim, Lutz, 1990b; Furseth, Johansen 1968 e Takuma et al. 1969), não se pode afirmar que a lesão cariosa tinha se desenvolvido numa superfície dental previamente coberta por cálculo dental, ou se este tinha se formado, concomitante, com a lesão cariosa, o que seria um fato novo.

Assim, de todos os estudos encontrados que relataram a presença simultânea de cálculo dental e lesão cariosa ativa apenas o estudo de Thylstrup et al. (1990) analisou lesões cariosas de história conhecida, isto é, que foram produzidas, intencionalmente, sobre um tecido dental hígido, enquanto que os demais estudos analisaram lesões cariosas de tempo e progressão desconhecidos. Neste estudo, foi utilizado o modelo *in vivo* da doença cárie proposto por Hals, Simonsen (1972), desta vez aplicado em pré-molares de indivíduos que residiam em área com água fluoretada. O período de indução de lesão cariosa variou de 2 a 14 dias. Os elementos dentais que passaram 8 ou mais dias com desafio cariogênico apresentaram depósitos de cálculo dental em íntima associação com as lesões cariosas de esmalte, produzidas durante o período experimental. Entretanto, deve-se salientar que não é possível fazer um diagnóstico biologicamente verdadeiro da presença ou não de lesão cariosa e/ou de cálculo dental numa superfície de esmalte dental previamente exposta ao meio bucal apenas com o uso

de inspeção visual, como foi feito por Thylstrup et al. (1990). Isto, porque alterações subclínicas/ultra-estruturais, que interferem na morfologia observada no microscópio eletrônico, após o período experimental, não podem ser detectadas. Neste contexto, depósitos de cálculo dental presentes na superfície do esmalte, antes do período de indução de lesão cáriosa, poderiam perfeitamente estar em processo de dissolução, e não em processo de formação. Por não se ter um diagnóstico ultra-estrutural da superfície de esmalte antes do período experimental, estes depósitos podem ter sido erroneamente considerados como estando em processo de formação. Em que pese o fato de a presença de cálculo dental só ter sido detectada em dentes que permaneceram mais de 8 dias com as bandas ortodônticas, o pequeno número de dentes incluídos e o aumento da imagem com que foram estudados dão margem para questionamento.

O presente estudo, por empregar espécimens dentinários previamente polidos, não expostos ao ambiente bucal antes do período experimental, é, assim, Pelo conhecimento dos pesquisadores, o primeiro estudo que pôde provar a formação concomitante de lesão cáriosa e de cálculo dental, num mesmo sítio de tecido dental duro em humanos.

Com relação ao possível fator etiológico da formação de cálculo dental sobre as lesões cárias ativas, Holmen (1987) e Thylstrup et al. (1990) comentam que a presença de cálculo dental na superfície das lesões cárias ativas pode ser devida à ação do fluoreto. Tal assertiva é feita com base na comparação com os resultados de estudos com modelos *in vivo* da doença cárie em elementos dentais de indivíduos que não tinham estado expostos ao fluoreto, durante os períodos experimentais, que não mostraram a presença de cálculo dental (Holmen et al. 1985a, 1985b; Holmen et al. 1988), e nos resultados do estudos de Houwink, Backer Dirks (1966), que mostraram uma maior

prevalência de cálculo dental em áreas com água fluoretada em comparação com áreas não fluoretadas. Porém, Houwink, Backer Dirks (1966) comentam que a maior prevalência de cálculo nas áreas fluoretadas pode ter sido consequência do menor número de extrações nestas áreas, o que indicaria um efeito indireto do fluoreto.

Por outro lado, as amostras dentais das lesões cariosas estudadas por Furseth, Johansen (1968) foram obtidas de indivíduos que também residiam em área com água fluoretada (1 ppm). No presente estudo, utilizaram-se voluntários que residiam em área com água fluoretada, o que reforça a hipótese de Holmen (1987) e Thylstrup et al. (1990). Pelo conhecimento dos pesquisadores, ainda não existe uma explicação para o possível efeito do fluoreto na promoção de formação de cálculo dental na placa dental acidogênica de lesões cariosas ativas. Porém, os dados deste estudo fornecem indícios que reforçam dados de estudos anteriores que mostraram uma grande frequência de cálculo dental em lesões cariosas ativas em elementos dentais de indivíduos que residem em área com água fluoretada, o que fornece suporte para uma maior investigação nesta área.

Neste estudo, chamou muito à atenção a peculiaridade como os depósitos de cálculo dental se distribuíam na lesão cariosa. Em certas ocasiões, os depósitos eram bastante delicados e poderiam facilmente ter passado despercebidos, como pode ser notado no caso dos espécimens-controle dos voluntários 6 (Figs. 16, 17 e 18) e 8 (Figs. 20 e 21). O escaneamento destes espécimens com um pequeno aumento não revelou nenhum indício de presença de cálculo dental. Porém, quando as observações foram feitas com um aumento maior, puderam-se detectar delicados depósitos calcificados reticulados, que pareciam ter uma extensão bastante pequena. Entretanto, quando estes foram examinados com um aumento maior, foi evidenciado que eles ocupavam uma área bem mais extensa do que se estimava anteriormente.

Assim, os depósitos mais delicados de cálculo dental poderiam facilmente não terem sido detectados pelas seguintes razões: (1) o estudo sistemático em microscopia utiliza aumentos maiores após detecção, com pequeno aumento, de estruturas que indiquem interesse de estudo mais detalhado; (2) o estudo com aumentos maiores, por razões técnicas como: centralização de feixe de elétrons, correção de astigmatismo, contraste ideal, etc., é muito demorado e oneroso e (3) dependendo do grau de dissolução de uma determinada área do espécimen, depósitos muito delicados de cálculo dental poderiam ser, e podem ter sido, confundidos com cristais de hidroxiapatita parcialmente dissolvidos - que apresentam um aspecto fibrilar - caso os primeiros não aparecessem associados a um depósito maior de cálculo dental. Assim, muito provavelmente, a presença de cálculo dental nos espécimens do GC pode ter sido subestimada.

Classicamente, a ocorrência de depósitos de cálculo dental não tem sido associada com a de lesões cariosas (Alexander, 1971). Muito pelo contrário, muitos estudos relatam que indivíduos que são propícios a desenvolver cálculo dental têm pouca tendência a desenvolver lesão cariosa, e vice-versa (Yardeni, 1948). Considera-se, também, que na dentição existem áreas que são mais propensas a apresentar cálculo dental e outras mais propensas a apresentar lesão cariosa (Ainamo, 1970 e Dawes, Macpherson, 1993).

A crença de que onde se desenvolve cálculo dental não se desenvolve lesão cariosa se reflete nas diferentes abordagens dadas às doenças cárie e periodontal. A primeira é caracterizada por dissolução mineral do tecido dental duro, sem associação com formação de cálculo dental; a segunda é caracterizada por destruição dos tecidos de inserção do elemento dental no osso alveolar, freqüentemente associada com a formação de cálculo dental sobre o tecido dental duro. Neste contexto, é interessante notar que já foi

relatado na literatura, por um estudo radiomicrográfico, a ocorrência também de desmineralização no cemento exposto à bolsa periodontal em dentes de humanos (Selvig, 1969).

A presença de um tecido dental duro desmineralizado associado com a presença de cálculo dental - um quadro presente na superfície radicular acometida por doença periodontal - foi uma figura freqüentemente encontrada nos nossos espécimens-controle, apontando para uma semelhança morfológica entre a superfície dental acometida por doença cárie e aquela acometida por doença periodontal! Isto pode indicar, em última análise, um fator etiológico comum para ambas as doenças, cárie e periodontal. Tal hipótese, porém, precisa ser avaliada com outros estudos mais detalhados.

É importante salientar que, quando se pretende avaliar a relação entre um determinado evento biológico e qualquer fator externo ou interno, o critério de mensuração do evento biológico exerce um papel crucial. Assim como na lesão cariosa se tem uma escala de alterações morfológicas, que vão desde o estágio ultra-estrutural, passando pelo estágio clínico de lesão de mancha branca até o estágio de cavitação macroscópica (Thylstrup, 1990), o cálculo dental também possui uma escala de formação. Neste contexto, dependendo da sensibilidade do método de diagnóstico usado, a relação entre cálculo dental e qualquer fator externo ou interno pode ser muito diferente. A grande maioria dos estudos relativos à correlação entre cálculo dental e lesão cariosa utilizaram critérios de inspeção visual, a olho nu, para detecção do cálculo dental, de modo que muitos pequenos depósitos não puderam ser detectados. As análises em MEV mostraram que seria impossível detectar, macroscopicamente, os depósitos calcificados encontrados nos espécimens-controle do presente estudo.



Um fator que contribui para a existência de poucos relatos de associação entre lesão cáriosa e cálculo dental é a antiga idéia de que a lesão cáriosa se caracteriza por desmineralização da subsuperfície do tecido dental duro, o que levou e ainda leva, muitos pesquisadores a estudar a morfologia das lesões cárias com métodos de estudo transversal - como a radiomicrografia e a microscopia de luz polarizada - sem um estudo da morfologia da superfície externa, perdendo, assim, muita informação sobre a presença de depósitos calcificados.

Além das relações com os fluoretos e com a morfologia da superfície dental exposta à bolsa periodontal, a presença de cálculo dental nos espécimens-controle desperta outra interessante discussão: o pH da placa dental cariogênica. Este é caracteristicamente ácido. O cálculo dental é formado pela precipitação de fosfatos de cálcio, que podem se apresentar em várias fases - hidroxiapatita, octacálcio fosfato e dicálcio fosfato diidratado . Para que haja supersaturação com relação a sais de fosfato de cálcio na placa dental, o pH desta deve estar entre 5,5 (para supersaturação de hidroxiapatita) e 6,5 (para supersaturação de octacálcio fosfato e dicálcio fosfato diidratado) (Nancollas, Johnsson, 1994).

Outras considerações importantes são: (1) as aplicações diárias de solução de sacarose a 50% nos espécimens, o que, invariavelmente, tem sido apontado como um estímulo à produção de ácidos na placa dental (Rölla, 1989; Tanzer, 1989); (2) o local na cavidade bucal onde os espécimens ficaram; local este de reduzido fluxo salivar em relação, por exemplo, à superfície lingual dos incisivos inferiores (local de grande prevalência de cálculo dental) (Dawes, Macpherson, 1993), favorecendo a produção de ácidos pela placa dental. Thylstrup et al. (1990) questionaram o pH baixo da placa dental cariogênica, com base nos seus achados de cálculo dental em lesão cáriosa ativa de

esmalte. Os dados do presente estudo reforçam este questionamento, pelos motivos já expostos. Novas pesquisas são necessárias nesta área para elucidar a relação do pH da placa dental com o potencial cariogênico e a formação simultânea de lesão cariiosa e de cálculo dental.

Os resultados do GE mostraram que houve uma significativa redução no grau de dissolução superficial, causada pela limpeza semanal, em comparação com o GC. No entanto, os resultados de dois espécimens mostraram que tal limpeza não foi suficiente para prevenir a desmineralização em todos os voluntários, apontando, assim, para uma limitação da limpeza semanal (ver Figs. 50, 51, e 52). Ögaard, Rølla, Arends (1988a) avaliaram o grau de desmineralização semanal em espécimens dentinários expostos a um desafio cariogênico num modelo *in situ*, semelhante ao usado no presente estudo, e verificaram que já após a primeira semana ocorria desmineralização nestes espécimens. No mesmo estudo, os autores mostraram que, usando-se o mesmo modelo, o grau de desmineralização em esmalte é menor do que em dentina.

Assim, era de se esperar que se pudesse detectar algum grau de desmineralização em todos os nossos espécimens experimentais, uma vez que todos tiveram, pelo menos, quatro períodos intercalados de desafio cariogênico. Entretanto, na maioria dos espécimens, não foi possível detectar qualquer diferença em relação aos espécimens polidos, a não ser por um maior grau de desgaste superficial, causado pelos instrumentos de limpeza empregados. É possível que as limpezas tenham desgastado finas camadas superficiais, dissolvidas em cada semana de desafio cariogênico, mas mesmo as análises em MEV com grande aumento mostraram uma grande semelhança entre os espécimens do GE com aqueles que foram apenas polidos.

Em discordância com os resultados do estudo de Holmen et al. (1988), os resultados deste estudo mostraram que a limpeza semanal em tecido dental duro (dentina), exposto a um desafio cariogênico, não necessariamente previne o desenvolvimento de desmineralização no mesmo, tendo, entretanto, um forte impacto no grau de desmineralização atuante. Como foi salientado por Zero (1995), quando se avalia o efeito de uma medida preventiva sobre a população, o uso de modelos *in situ*, ou mesmo de modelos *in vivo* (pensamos nós), apresenta desvantagens pelo número pequeno da amostra, de modo que as variações inter-individuais são, muitas vezes, subestimadas ou mesmo não detectadas. Certamente o pequeno número da amostra do estudo de Holmen et al (1988) não tenha permitido detectar graus maiores de desmineralização, que podem ocorrer naturalmente em certos indivíduos.

Em relação ao modelo empregado neste estudo, o modelo usado por Holmen et al. (1988) reproduz os eventos que ocorrem *in vivo* durante o desenvolvimento das lesões cáries de maneira mais fiel, o que deve ser considerado quando se comparam os seus resultados com os deste estudo. Por outro lado, Holmen, Thylstrup, Årtun (1987b) mostraram que a desmineralização do esmalte pode ocorrer já após uma semana de desafio cariogênico com o modelo da banda ortodôntica. O estudo de Holmen et al. (1988) foi realizado com esmalte humano já exposto à cavidade bucal há alguns anos, durante os quais passou por várias injúrias químicas e mecânicas. Por isso, a distinção, no MEV, entre uma superfície de esmalte hígido e uma superfície de esmalte que passou por um desafio cariogênico por um curto período de tempo, e depois sofreu uma ação mecânica (que removeu seus cristais mais externos parcialmente dissolvidos) é bastante questionável. Assim, muito provavelmente, o relatado efeito preventivo da limpeza semanal, no desenvolvimento de lesões cáries, foi baseado na visualização da superfície do esmalte

dental previamente desmineralizado e que teve seus cristais mais superficiais - parcialmente dissolvidos - removidos pela ação mecânica da limpeza, ficando com cristais mais compactos expostos na superfície. No presente estudo foram incluídos espécimens dentinários polidos, isto é, que não apresentavam escaras de injúrias prévias, de modo que as alterações observadas podem ser totalmente atribuídas aos eventos ocorridos durante o período *in situ*, permitindo uma comparação mais consistente entre as morfologias pré e pós-experimentais. Neste contexto, tais resultados merecem ser considerados como base para questionar a alta eficácia da limpeza semanal na prevenção de lesão cariiosa, relatada por Holmen et al. (1988).

Entretanto, muito embora os resultados não mostrem total eficácia da limpeza profissional semanal na prevenção da desmineralização em dentina, eles suportam o uso de tal medida como um recurso terapêutico em voluntários não colaboradores, no que tange à higiene bucal, uma vez que esta medida irá, pelo menos, reduzir a taxa de perda mineral num dado espaço de tempo, dando mais tempo ao profissional para motivar e educar o voluntário, no tocante à higiene bucal, sem precisar tomar medidas operatórias nas fases iniciais do tratamento.

A maioria dos espécimens do GE podem ser consideradas lesões cariosas inativas ou superfícies hígidas, tendo sua integridade mineral preservada pelo mesmo mecanismo básico que mantém a integridade dos tecidos dentais duros na cavidade bucal contra a dissolução cariiosa: a atrição mecânica regular de sua superfície. Holmen, Thylstrup (1984), que analisaram a ultra-estrutura da superfície de esmalte dental em dentes humanos, em diferentes estágios de erupção (não irrompido; irrompido parcialmente e sem contato com o antagonista; e irrompido totalmente e com contato com antagonista), mostraram que o esmalte, clinicamente tido como hígido, representa, na

verdade, lesões cariosas inativas subclínicas que assim são mantidas pela regular atrição mecânica incidente sobre sua superfície. Deste modo, a morfologia de superfície dessas amostras de espécimens do GE podem ser comparadas àquela de lesões cariosas dentinárias inativas. Na literatura, os estudos encontrados sobre ultra-estrutura de tais lesões foram realizados em secções transversais à superfície dentinária, a fim de se estudar as diversas camadas da lesão cariiosa, desde a superfície externa até a polpa dentária. Assim, os dados de que se dispõe para comparação não são de análises diretas da superfície externa da lesão cariiosa dentinária, mas sim das camadas mais superficiais de secções longitudinais da lesão.

Schüpbach, Guggenheim, Lutz (1990a), num estudo de lesões cariosas dentinárias inativas com microscopias eletrônicas de varredura e de transmissão, relataram a presença de massas bacterianas com mineralizações inter e intracelular nas porções mais superficiais dos túbulos dentinários. Schüpbach, Guggenheim, Lutz (1992), num estudo semelhante, relataram que as porções mais externas dos túbulos dentinários apresentavam uma barreira mineralizada, formada por acúmulos intratubulares de cristais romboédricos ou de bactérias calcificadas. A presença de bactérias calcificadas representa, assim, cálculo dental.

No presente estudo, em dois espécimens experimentais encontramos a presença de cálculo dental cobrindo toda a superfície dentinária, tendo esta camada uma espessura homogênea, certamente criada pelas limpezas mecânicas semanais (ver Figs. 39 e 40). Esta camada de cálculo dental penetrava os túbulos dentinários por uma certa extensão. Em alguns casos, foi possível detectar a obliteração da entrada destes elementos pela massa calcificada (ver Figs. 41 e 42). Assim, as bactérias calcificadas observadas por Schüpbach, Guggenheim, Lutz (1990a) e Schüpbach, Guggenheim, Lutz (1992), em



secções longitudinais de lesão cariiosa dentinária inativa, são, certamente, equivalentes ao cálculo dental observado sobre a superfície dentinária em alguns dos espécimens dentinários deste estudo.

Neste contexto, a barreira externa relatada por Schüpbach, Guggenheim, Lutz (1992) não deve ser considerada como resultado de uma remineralização da superfície dentinária, mas sim como resultado da calcificação da placa bacteriana, presente sobre esta superfície. A manutenção de uma camada de espessura homogênea de cálculo dental, ao nível subclínico, é conseqüente da ação da atrição mecânica incidente. Frente á associação acima feita, sugere-se que os novos estudos sobre a histopatologia de lesões cariosas dentinárias inativas incluam a análise direta da superfície da lesão com o uso de MEV. Ademais, é importante a pesquisa sobre exposição prévia a fluoretos, por parte dos indivíduos que cederem as amostras dentais para estudo, a fim de se poder fazer uma associação entre os achados morfológicos ultra-estruturais e a presença de fluoretos no ambiente bucal.

## **7 CONCLUSÃO**

Com base na literatura pesquisada, na metodologia empregada e nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- 1) Todos os espécimens do grupo-controle apresentaram dissolução superficial, indicando a presença de lesão cariiosa ativa, freqüentemente associada a depósitos de cálculo dental com aspecto reticulado;
- 2) Alguns espécimens do grupo experimental também apresentaram sinais de dissolução superficial, indicando que a limpeza mecânica semanal não foi eficaz para impedir o desenvolvimento de desmineralização em todos os espécimens deste grupo, tendo, entretanto, um forte efeito diminuidor do grau de dissolução superficial, causado pelo desafio cariogênico;
- 3) A limpeza mecânica semanal também não foi capaz de prevenir a formação de depósitos de cálculo dental no grupo experimental. Em alguns espécimens, não foi possível a visualização direta da superfície, por esta encontrar-se totalmente coberta por cálculo dental.

## **8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 01) AINAMO, J. Concomitant periodontal disease and dental caries in young adult males. **Suom. Hammarlaak. Toim.**, Helsinki, v.66, p.30-36, 1970.
- 02) ALALUUSUA, S. Transmission of mutans streptococci. **Proc. Finn. Dent. Soc.**, Helsinki, v.87, n.4, p.443-447, 1991.
- 03) ALEXANDER, A.G. A study of the distribution of supra and subgingival calculus, bacterial plaque and gingival inflammation in the mouths of 400 individuals. **J. Periodontol.**, Chicago, v.42, n.1, p.21-28, Jan. 1971.
- 04) ANDERSON, B.G. Clinical study of arresting dental caries. **J. Dent. Res.**, Baltimore, v.17, p.443-452, 1938.
- 05) ARENDS, J., ÖGAARD, B., EKSTRAND, J. et al. Experimental enamel caries in man: a microradiographic investigation. **J. Dent. Res.**, Washington, v.63, n.2, p.255, Mar. 1984. Abstract



- 06) ÅRTUN, J., THYLSTRUP, A. A 3-year clinical and SEM study of surface changes of carious enamel lesions after inactivation. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.**, St. Louis, v.95, n.4, p.327-333, Apr. 1989.
- 07) \_\_\_\_\_. Clinical and scanning electron microscopic study changes of incipient caries lesions after debonding. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.94, n.3, p.193-201, June, 1986.
- 08) AXELSSON, P., LINDHE, J. The effect of a plaque control program on gingivitis and dental caries in schoolchildren. **J. Dent. Res.**, Houston, v.56, p.142-148, Oct. 1977. Número especial.
- 09) BACKER DIRKS, O. Post-eruptive changes in dental enamel. **J. Dent. Res.**, Houston, v.45, n.3, p.503-511, 1966. Suplemento.
- 10) BANDLISH, L.K. Attrition. A defense mechanism against caries. **Probe**, London, v.21, n.11, p.419-420-422, May, 1980.
- 11) BARATIERI, L.N., ANDRADA, M.A.C., MONTEIRO JR., S. et al. **Dentística: procedimentos preventivos e restauradores**. 2.ed. São Paulo: Santos, 1993. 509p.

- 12) BJÖRNDAL, L., THYLSTRUP, A. A structural analysis of approximal enamel caries lesions and subjacent dentin reactions. **Eur. J. Oral Sci.**, Copenhagen, v.103, n.1, p.25-31, Jan. 1995.
- 13) BOYAR, R.M., THYLSTRUP, A., HOLMEN, L. et al. The microflora associated with development of initial enamel decalcification below orthodontic bands *in vivo* in children living in a fluoridated-water area. **J. Dent. Res.**, Washington, v.68, n.12, p.1734-1738, Dec. 1989.
- 14) CARVALHO, J.C., EKSTRAND, K.R., THYLSTRUP, A. Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. **J. Dent. Res.**, Washington, v.68, n.5, p.773-779, May, 1989.
- 15) \_\_\_\_\_. Results after 1 year of non-operative occlusal caries treatment of erupting permanent first molars. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.19, n.1, p.23-28, Feb. 1991.
- 16) CARVALHO, J.C., THYLSTRUP, A., EKSTRAND, K.R. Results after 3 years of non-operative occlusal caries treatment of erupting permanent first molars. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, Copenhagen, v.20, n.4, p.187-192, Aug. 1992.

- 17) DAWES, C., MACPHERSON, L.M.D. The distribution of saliva and sucrose around the mouth during the use of chewing gum and the implications for the site-specificity of caries and calculus deposition. **J. Dent. Res.**, Washington, v.72, n.5, p.852-857, May, 1993.
- 18) EKSTRAND, K.R., NIELSEN, L.A., CARVALHO, J.C. et al. Dental plaque and caries on permanent first molar occlusal surfaces in relation to sagittal occlusion. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.101, n.1, p.9-15, Feb. 1993.
- 19) EMBERY, G., RÖLLA, G. **Clinical and biological aspects of dentifrices**. New York: Oxford University Press, 1992. 366p.
- 20) FEJERSKOV, O., NYVAD, B., LARSEN, M.O. Human experimental caries models: intra-oral environmental variability. **Adv. Dent. Res.**, Washington, v.8, n.2, p.134-143, July, 1994.
- 21) FEJERSKOV, O., NYVAD, B. Root surface caries in human: a review. In: EMBERY, G., RÖLLA, G. **Clinical and biological aspects of dentifrices**. New York: Oxford University Press, 1992. 366p. p.105-130.

- 22) FEJERSKOV, O., THYLSTRUP, A. Patologia da cárie. In: THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. **Tratado de cariologia**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1988. 388p. p.194-223.
- 23) FRISKOPP, J., HAMMARSTRÖM, L. A comparative, scanning electron microscopic study of supragingival and subgingival calculus. **J. Periodontol.**, Chicago, v.51, n.10, p. 553-562, Oct. 1980.
- 24) FURSETH, R., JOHANSEN, E. A microradiographic comparison of sound and carious human dental cementum. **Archs. Oral Biol.**, London, v.113, p.1197-1206, 1968.
- 25) GEDDES, D.A.M., COOKE, J.A., EDGAR, W.M. et al. The effect of frequent sucrose mouthrinsing on the induction *in vivo* of caries-like changes in human dental enamel. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v.23, n.8, p.663-665, 1978.
- 26) GOLDSTEIN, J.I., YAKOWITZ, H., NEWBURY, D.E. et al. **Practical scanning electron microscopy**. New York: Plenum Press, 1977. 582p. p. 401-403: Practical aspects of X-ray microanalysis.
- 27) GUEDES PINTO, A.C. **Odontopediatria**. 3.ed. São Paulo: Santos, 1991. 1126p.

- 28) HALS, E., SIMONSEN, T.L. Histopathology of experimental *in vivo* caries around silver amalgam fillings. **Caries Res.**, Basel, v.6, n.1, p.16-33, 1972.
- 29) HOLMEN, L. A scanning electron microscopy study of approximal premolar surfaces from fifteen-year-old children living in a fluoridated community. **Scanning Microsc.**, Chicago, v.1, n.4, p.2019-2024, Dec. 1987.
- 30) HOLMEN, L., MEJARE, I., MALMGREN, B. et al. The effect of regular professional plaque removal on dental caries *in vivo*. A polarized light and scanning electron microscope study. **Caries Res.**, Basel, v.22, n.4, p.250-256, 1988.
- 31) HOLMEN, L., ÖGAARD, B., RÖLLA, G. et al. A polarized light and scanning electron microscope study of the effect of Duraphat treatment on *in vivo* caries. **Scand. Dent. J. Res.**, Copenhagen, v.94, n.6, p.521-529, Dec. 1986.
- 32) HOLMEN, L., THYLSTRUP, A., ÅRTUN, J. Clinical and histological features observed during arrestment of active enamel carious lesions *in vivo*. **Caries Res.**, Basel, v.21, n.6, p.546-554, 1987a.



- 33) \_\_\_\_\_. Surface changes during the arrest of active enamel carious lesions *in vivo*. A scanning electron microscope study. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.45, n.6, p.383-390, Dec. 1987b.
- 34) HOLMEN, L., THYLSTRUP, A., ÖGAARD, B. et al. A polarized light microscopic study of progressive stages of enamel caries *in vivo*. **Caries Res.**, Basel, v.19, n.4, p.348-354, 1985a.
- 35) \_\_\_\_\_. A scanning electron microscopic study of progressive stages of enamel caries *in vivo*. **Caries Res.**, Basel, v.19, n.4, p.355-367, 1985b.
- 36) HOLMEN, L., THYLSTRUP, A. Variations in 'normal' enamel surfaces as visualized in the SEM. In: BELCOURT, A.B., RUCH, J.V. **Tooth morphogenesis and differentiation II**. Strasbourg: INSERM, 1984. v. 125, p. 283-294.
- 37) HOUWINK, B., BACKER-DIRKS, O. Dental calculus and fluoridation of the water. **Advances Fluorine Res.**, Oxford, v.14, p.149-156, 1966.

- 38) HUANG, S., NAKAGAKI, H., OKUMURA, H. et al. Fluoride distribution in human dental calculus obtained from different sites on the tooth surface. **J. Periodont. Res.**, Copenhagen, v.31, n.2, p.149-156, Feb. 1996.
- 39) JENKINS, G.N., GEDDES, D.A.M., COOKE, J.A. Rinvestigation of experimental caries in man. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.52, p.967, 1973. Abstracts
- 40) KEYES, P.H. Recents advances in dental caries research. Bacteriological findings and biological implications. **Int. Dent. J.**, Den Haag, v.12, p. 443-464, 1962.
- 41) LEUNG, S.W., JENSEN, A.T. Factors controlling the deposition of calculus. **Int. Dent. J.**, Den Haag, v.8, p.613-626, 1958.
- 42) LITTLE, M.F., CASCIANI, C.A., ROWLEY, J. Dental calculus composition. I. Supragingival calculus. **J. Dent. Res.**, Houston, v.42, n.1, p.78-86, Jan., 1963.
- 43) LOESCHE, W.H.L. Chemotherapy of dental plaque infections. **Oral Sei. Rev.**, Copenhagen, v.9, p. 65-107, 1976.
- 44) MALTZ, M., SILVA, B.B., CARVALHO, D.Q. et al. Non invasive treatment of occlusal caries. Results after 2 years. **J. Dent. Res.**, Washington, v.74, p.441, 1995. Abstracts

- 45) \_\_\_\_\_. Occlusal caries. Possibility of control. **J. Dent. Res.**, Washington, v.74, n.3, , p.784, 1994. Abstracts
- 46) MONDELLI, J. et al. **Restaurações estéticas**. São Paulo: Sarvier, 1984. 190p.
- 47) NANCOLLAS, G.H., JOHNSSON, M.A.S. Calculus formation and inhibition. **Adv. Dent. Res.**, Washington, v.8, n.2, p.307-311, July, 1994.
- 48) NEWBRUN, E. Preventing dental caries: breaking the chain of transmission. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.123, n.6, p.55-59, June, 1992.
- 49) NYGAARD ÖSTBY, B., MÖRCH, T., HALS, E. A method for caries production on selected tooth surfaces in vivo. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.15, p.357-363, 1957.
- 50) NYVAD, B., FEJERSKOV, O. Active root surface caries converted into inactive caries as a response to oral hygiene. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.94, n.3, p.281-284, June, 1986.

- 51) ÖGAARD, B., RÖLLA, G., ARENDS, J. *In vivo* progress of enamel and root surface lesions under plaque as a function of time. **Caries Res.**, Basel, v.22, n.5, p.302-305, 1988a.
- 52) \_\_\_\_\_. Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 1. Lesion development. **Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.**, St Louis, v.94, n.1, p.68-73, July, 1988b.
- 53) ÖGAARD, B., RÖLLA, G. Intra-oral models: comparison of *in situ* substrates. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, p.920-923, Apr. 1992. Número especial
- 54) \_\_\_\_\_. The *in vivo* orthodontic banding model for vital teeth and the *in situ* orthodontic banding model for hard tissue slabs. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, p.832-835, Apr. 1992. Número especial
- 55) PETERSSON, L.G., EDWARDSSON, S., KOCH, G. et al. The effect of a low fluoride containing toothpaste on the development of dental caries and microbial composition using a caries generating model device *in vivo*. **Swed. Dent. J.**, Jönköping, v.19, n.1/2, p.83-94, 1995.

- 56) RÖLLA, G. Why sucrose is so cariogenic? The role of glucosyltransferase and polysaccharides. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.97, n.2, p.115-119, Apr. 1989.
- 57) SAKAE, T., YAMAMOTO, H., HIRAI, G. Scanning electron microscopy of dental calculi. **J. Nihon Univ. Sch. Dent.**, Tokyo, v.27, n.3, p.181-188, Sept. 1985.
- 58) SCHROEDER, H.E. Inorganic content and histology of early calculus in man. **Helv. Odontol. Acta**, Zurich, v.7, n.1, p.17-30, 1963.
- 59) SCHÜPBACH, P., GUGGENHEIM, B., LUTZ, F. Histopathology of root surface caries. **J. Dent. Res.**, Washington, v.69, n.5, p.1195-1204, May, 1990a.
- 60) \_\_\_\_\_. Human root caries: histopathology of advanced lesions. **Caries Res.**, Basel, v.24, n.3, p.145-158, 1990b.
- 61) \_\_\_\_\_. Human root caries: histopathology of initial lesions in cementum and dentin. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.18, n.3, p.146-156, Mar. 1989.



- 62) \_\_\_\_\_. Human root caries: histopathology of arrested lesions. **Caries Res.**, Basel, v.26, n.3, p.153-164, 1992.
- 63) SELVIG, K.A. Biologic changes at the tooth saliva interface in periodontal disease. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.48, p.846-855, Sept./Oct. 1969.
- 64) SILVERSTONE, L.M. Structure of carious enamel, including the early lesion. **Oral Sci. Rev.**, Copenhagen, v.3, p.100-160, Sep. 1973.
- 65) TAKUMA, S., SUNOHARA, H., SEKIGUCHI, K. et al. Electron microscopy of carious lesions in human dentin. **Bull. Tokyo Dent. Coll.**, Tokyo, v.8, n.3, p.143-165, Dec. 1967.
- 66) TAKUMA, S., SUNOHARA, H., WATANABE, H. et al. Some structural aspects of carious lesions in human dentin. **Bull. Tokyo Dent. Coll.**, Tokyo, v.10, n.4, p.173-181, Nov. 1969.
- 67) TANZER, J.M. On changing the cariogenic chemistry of coronal plaque. **J. Dent. Res.**, Washington, v.68, n.10, p.1576-1587, Oct. 1989. Número especial
- 68) TEN CATE, J.M. Patient selection and appliance design in intra-oral models. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, p.908-910, Apr. 1992. Número especial

- 69) TEN CATE, J.M. *In situ* models, physico-chemicals aspects. **Adv. Dent. Res.**, Washington, v.8, n.2, p.125-133, July, 1994.
- 70) THEILADE, J. Placa dental e cálculo. In: LINDHE, J. **Tratado de periodontologia clínica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1992. 493p. p.58-83.
- 71) THEILADE, J., SCHROEDER, H.E. Recent results in dental calculus research. **Int. Dent. J.**, Den Haag, v.16, p.205-221, June, 1966.
- 72) THYLSTRUP, A. BOYAR, R.M., HOLMEN, L. et al. A light and scanning electron microscopic study of enamel decalcification in children living in a water-fluoridated area. **J. Dent. Res.**, Washington, v.69, n.10, p.1626-1633, Oct. 1990.
- 73) THYLSTRUP, A., CHIRONGA, L., CARVALHO, J. de et al. The occurrence of dental calculus in occlusal fissures as an indication of caries activity. In: TEN CATE, R.M. **Recent advances in the study of dental calculus**. Oxford: IRL Press, 1989. 540p. p.211-222.

- 74) THYLSTRUP, A. Clinical evidence of the role of pre-eruptive fluoride in caries prevention. **J. Dent. Res.**, Washington, v.69, p.742-750, Feb. 1990. Número especial
- 75) THYLSTRUP, A., FREDEBO, L. A method for studying surface coatings and the underlying enamel features in the scanning electron microscope. In: FRANK, R.M., LEACH, S.A. **Surface and colloid phenomena in the oral cavity: methodological aspects**. Proceedings of a workshop on saliva-dental plaque and enamel surface interactions. London: IRL Press, 1982. 408p. p.169-184.
- 76) VON DER FEHR, F.R. A study of carious lesions produced in vivo in unabraded, abraded, exposed, and F-treated human enamel surfaces, with emphasis on the X-ray dense outer layer. **Archs. Oral Biol.**, London, v.12, p.797-814, July, 1967.
- 77) VON DER FEHR, F.R., LÖE, H., THEILADE, E. Experimental caries in man. **Caries Res.**, Basel, v.4, n.2, p.131-148, 1970.
- 78) VON DER FEHR, F.R. Maturation and remineralization of enamel. **Advances Fluorine Res.**, Oxford, v.3, p.83-95, 1965.
- 79) \_\_\_\_\_. The caries inhibiting effect of sodium hexafluorostannate tested by the gold plate technique under various experimental conditions. **Caries Res.**, Basel, v.2, n.1, p.57-68, 1968.

- 80) \_\_\_\_\_. The caries inhibiting effect of topically applied hexafluorostannate on dentine and enamel. **Caries Res.**, Basel, v.4, n.3, p.269-282, 1970.
- 81) \_\_\_\_\_. The effect of fluorides on the caries resistance of enamel. **Acta Odontol. Scand.**, Oslo, v.19, n.6, p.431-442, Dec. 1961.
- 82) WEFEL, J.S. *In situ* caries models: reaction paper. **Adv. Dent. Res.**, Washington, v.9, n.3, p.231-234, Nov. 1995.
- 83) YARDENI, J. Dental calculus. A bacteriological and physical study. **J. Dent. Res.**, Ohio, v.27, p.532-540, 1948.
- 84) ZERO, D.T., FU, J., ANNE, K.M., et al. An improved intra-oral enamel demineralization test model for the study of dental caries. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, p.871-878, Apr. 1992. Número especial
- 85) ZERO, D.T. *In situ* caries models. **Adv. Dent. Res.**, Washington, v.9, n.3, p.214-230, Nov. 1995.

## **ANEXOS**



ANEXO 01 - Dados da concentração de fluoreto na água de abastecimento do

Município de Florianópolis, durante o ano de 1995.



Universidade do Vale do Itajaí  
Faculdade de Odontologia

**Laboratório de Vigilância Sanitária de Flúor**

ANÁLISE DE FLÚOR

SOLICITANTE: FAOVI/UNIVALI

ORIGEM: Água de abastecimento de FLORIANÓPOLIS

DATA DA COLETA: 04/01/95

AMOSTRAS	CONCENTRAÇÃO EM ppm
234. Centro de Saúde Itacorubi Estrada Geral, sn-Itacorubi	0,74
235. Centro de Saúde Canto da Lagoa R. Laurindo Januário, sn-Canto da Lagoa	0,06
236. Centro de Saúde Lagoa da Conceição R. João P. da Costa, sn-Lagoa da Conceição	0,07
237. Centro de Saúde Barra da Lagoa R. Almirante Dutra, sn-Barra da Lagoa	0,12
238. Centro de Saúde Canasvieiras Estrada Geral, sn-Canasvieiras	0,08
239. Centro de Saúde Saco Grande 1 R. São Paulo, sn-Saco Grande 1	0,74
240. CCS/UFSC Campus Universitário-Trindade	0,86
241. Centro de Saúde Penitenciária R. Álvaro Ramos, sn-Trindade	0,79
242. Hospital Infantil Joana de Gusmão R. Rui Barbosa, 152-Agrônoma	0,70
243. Hospital Governador Celso Ramos R. Irmã Benwarda, sn-Centro	0,78
244. Centro de Saúde Saco dos Limões R. João Mota Espíndola, 353-Saco dos Limões	0,79
245. Centro de Saúde Costeira do Pirajubaé Av. Jorge Lacerda, sn-Costeira do Pirajubaé	0,05
246. Centro de Saúde Ribeirão da Ilha R. Marcelino Dutra, sn-Ribeirão da Ilha	0,10
247. Posto de Saúde Vila Aparecida R. Firmino Costa, 284-Coqueiros	0,76
248. Hospital de Florianópolis R. Santa Rita de Cassia, 279-Estreito	0,64

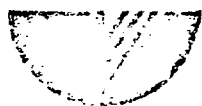
LIMITE MÍNIMO RECOMENDADO PARA O MUNICÍPIO: 0,7 ppm

LIMITE MÁXIMO RECOMENDADO PARA O MUNICÍPIO: 1,0 ppm

CONCENTRAÇÃO IDEAL RECOMENDADA PARA O MUNICÍPIO: 0,8 ppm

PARCER: Dos 15 pontos analisados, 7 apresentaram níveis de flúor inferiores ao mínimo recomendado para o município de Florianópolis (0,7 ppm). Enquanto 8 apresentaram níveis adequados de flúor (0,7 a 1,0 ppm).

Prof. Rinaldo Ferreira  
CRF/SC 2047  
Coordenador Lab. Vigilância Flúor  
UNIVALI



# Universidade do Vale do Itajaí

## Faculdade de Odontologia

### Laboratório de Vigilância Sanitária de Flúor

#### ANÁLISE DE FLÚOR

SOLICITANTE: PREFEITURA MUNICIPAL DE FLORIANÓPOLIS  
Josimari Telino de Lucerda

ORIGEM: Água de abastecimento de FLORIANÓPOLIS

DATA DA COLETA: 04/09/95

AMOSTRAS	CONCENTRAÇÃO EM ppm
234. CSII Itacorubi Estrada Geral de Itacorubi, fundos do Condomínio Verde Vale	0,83
236. CSII Lagoa R. João Pacheco da Costa, 255	0,08 *
241. CSI Morro da Penitenciária R. Álvaro Barros, sn - Agrônômica	0,89
244. CSII Saco dos Limões R. João Motta Espezin, sn - Saco dos Limões	0,89
247. CSI Vila Aparecida R. Firmino Costa, sn - Vila Aparecida	0,85
345. CSII Estreito R. Aracy Vaz Callado, 742 - Estreito	0,78
346. CSI Capoeiras R. Evangelista da Costa, 479	0,82
347. CSI Sapé R. "B" Esquina próxima da creche - Sapé	0,81
348. CSI Morro da Caixa Av. Ivo Silveira, sn próximo ao Hotel Oceano - Estreito	0,88
349. CSI Monte Cristo Estrada Geral da Pro-Casa, próximo as Casas da Água - Estreito	0,91
→ 350. CSII Santo Antônio Praça Getúlio Vargas, sn - Santo Antônio	0,83
→ 351. CSII Saco Grande II R. Virgílio Várzea, sn - Saco Grande II	0,92
352. CSII Centro Av. Rio Branco, 197 - Centro	-
353. CSI Monte Serrat R. General Vieira da Rosa, sn - Monte Serrat	0,83 •
354. CSII Campeche Estrada Geral do Campeche, próximo a Escola Eduardo Canes	0,10 *
355. CSI Rio Vermelho R. Geral do Rio Vermelho, próximo a Escola Antônio Pascoal Apóstolo	0,09 *
356. CSI Rio Tavares R. Antônio Luiz Gonzaga, Rodovia SC 401	0,10 *
357. CSII Ingleses Estrada Geral dos Ingleses	0,09 *
358. CSII Monte Verde Estrada Geral do Monte Verde	0,11 *
Amostra número 20, sem endereço = MURRO DAS PEDRAS	0,07 *

ANEXO 02 - Endereços dos voluntários que usaram os aparelhos palatais  
removíveis.

R.A.K. - Rua Rui Barbosa, Bairro Agrônômica, Florianópolis - SC.

L.B. - Rua Luís Oscar de Carvalho, Bairro Trindade, Florianópolis - SC.

M.S. - Rua Padre Roma, Bairro Centro, Florianópolis - SC.

B.B. - Rua Elmo Kimcesk, Bairro Trindade, Florianópolis - SC.

P.M. - Rua Lauro Linhares, Bairro Trindade, Florianópolis - SC.

F.B.S. - Rua Antônio Edú Vieira, Bairro Pantanal, Florianópolis - SC.

G.B. - Rua Esteves Júnior, Bairro Centro, Florianópolis - SC.

F.C.M. - Rua Sérgio Lopes Falcão, Bairro Trindade, Florianópolis - SC.

L.C.A. - Rua Baraúna, Bairro São Jorge, Florianópolis - SC.

G.K.B. - Rua Lauro Linhares, Bairro Trindade, Florianópolis - SC.