# UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

SUSCEPTIBILIDADE DO ESMALTE DENTÁRIO FLUORÓTICO AO DESAFIO EROSIVO E ABRASIVO

Cristiane Araújo Maia Silva

CRISTIANE ARAÚJO MAIA SILVA

SUSCEPTIBILIDADE DO ESMALTE DENTÁRIO FLUORÓTICO AO

**DESAFIO EROSIVO E ABRASIVO** 

Tese apresentada ao Programa de Pós-

Graduação em Odontologia,

Universidade Federal da Paraíba, como

parte dos requisitos para obtenção do

título de Doutor em Odontologia. Área de

Ciências Concentração em

Odontológicas. Linha de Pesquisa:

Fisiopatologia e morfologia dos tecidos

buco-maxilo-faciais.

Orientador: Prof. Dr. Anderson Takeo Hara

João Pessoa - PB

2022

#### Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

S586s Silva, Cristiane Araújo Maia.

Susceptibilidade do esmalte dentário fluorótico ao desafio erosivo e abrasivo / Cristiane Araújo Maia Silva. - João Pessoa, 2022. 77 f. : il.

Orientação: Anderson Takeo Hara. Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Abrasão dentária. 2. Fluorose dentária. 3. Erosão dentária. I. Hara, Anderson Takeo. II. Título.

UFPB/BC

CDU 616.314-001.4(043)



## UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



Candidata(o)

## ATA DA DEFESA PÚBLICA DE TESE DO DOUTORADO <u>NÚMERO DA DEFESA: 004</u> 2022

Aos quartoze dias do mês de dezembro do ano de 2022, às 15:00 horas, com uso de recursos à distância, reuniram-se os membros da banca examinadora composta pelas professores doutores: ANDERSON TAKEO HARA (Orientador(a) e Presidente), ANA MARIA GONDIM VALENCA (membro interno ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – UFPB), FREDERICO BARBOSA DE SOUSA (membro interno ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – UFPB), CATARINA RIBEIRO BARROS

doutoranda **CRISTIANE ARAÚJO MAIA SILVA**, com relação ao seu trabalho final de curso de doutorado (Tese), sob o título "Susceptibilidade do Esmalte Dentário Fluorótico ao Desafio Erosivo e Abrasivo". Aberta

ALENCAR (membro externo ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – UFPB) e JUAN SEBASTIÁN

LARA (membro externo ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – UFPB), a fim de arguirem a

a sessão pelo presidente da mesma, coube a(o) candidata(o), na forma regimental, expor o tema de sua Tese, dentro do tempo regulamentar. Em seguida, foi questionado pelos membros da banca examinadora,

sendo as explicações necessárias fornecidas e as modificações solicitadas registradas. Logo após, os membros da banca examinadora reuniram-se em sessão secreta, tendo chegado ao seguinte julgamento,

que, de público, foi anunciado: 1º Examinador (membro externo): Conceito "Aprovado"; 2º Examinador (membro externo): Conceito "Aprovado"; 3º Examinador (membro externo): Conceito "Aprovado"; 4º

Examinador (membro vinculado ao PPGO): Conceito "Aprovado" e 5º Examinador (Orientador(a) e

presidente): Conceito "Aprovado". O que resultou em conceito final igual: "APROVADO", o que permite a(o) candidata(o) fazer jus ao título de Doutor em Odontologia. Os documentos utilizados para avaliação da(o)

candidata(o) durante o processo aqui descrito apresentam-se como prova documental do mesmo e, como

tal, serão anexadas a esta ata para arquivamento. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata,

que será assinada pelo presidente, pelos demais membros da banca e pela(o) candidata(o).

Juan Sebastián lavaR	Calarina R. II de alman.
1º Examinador – Membro Externo	2º Examinador – Membro Externo
Flave	Dua Maria Gordin Valença
3° Examinador – Membro do PPGO	4º Examinador – Membro do PPGC
And M	Custiane Oracijo maja Silos,

38 5° Examinador – Presidente

#### **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha mãe (Alzira), Meu marido (Tato), meus filhos (Renata, Caio e Igor) e a Minhas irmãs (Mônica, Virgínia, Aline, Eveline), por todo amor ofertado, pelo apoio incondicional, por acreditarem e se esforçarem comigo para a realização dos meus sonhos.

#### **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, SEMPRE! Obrigada por lutar pelo meu crescimento em todos os momentos da minha vida. Por ter moldado meu caráter e transmitido valores éticos e morais que norteiam minha vida. Pelo exemplo de garra, força e determinação. Por me incentivar a galgar meus próprios caminhos e não me deixar abater nas adversidades. Pelo seu empenho na minha educação, incutindo no meu pensamento que o conhecimento era a única herança, a verdadeira que você iria me deixar e que é bem que não pode ser perdido.

Ao meu pai, por todo o incentivo e por ter tornado viável o meu crescimento pessoal.

Ao meu marido, Renato. Obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos dessa caminhada. Além de ser meu grande apoiador, me incentiva a crescer. Agradeço também por, em alguns momentos, acreditar mais em mim do que eu mesma acredito. Por compreender minhas ausências, pelo amor ofertado e por ser meu porto seguro, obrigada por ser meu maior fã. Obrigada ainda pela ajuda sempre ofertada nos momentos mais decisivos, por segurar a onda em casa quando necessitei por 2x me ausentar por 40 dias da família, obrigada por você ser quem você é.

Aos meus filhos (Renata, Caio e Igor) meu maior tesouro familiar. Tudo de mais rico que o mundo pode oferecer foram vocês que me deram, desde a importância do amor incondicional até a maneira de observar o quanto as coisas mais simples da vida podem nos fazer felizes. Obrigada pelo vínculo profundo e inexplicável. Eu os amo desde o primeiro minuto que os vi. Agradeço também por cada momento que brincamos juntos, por cada noite que vocês se preocuparam com meu trabalho e com os meus esforços, por cada dia nesses anos que fiquei estudando e vocês souberam entender o meu propósito, por sempre entenderem eu sempre sentada estudando no computador, tantos dias e tantas noites e terem orgulho da mãe de vocês, que mesmo tendo conquistado tantos sonhos, nunca desistiu de mais um deles, por cada abraço acolhedor e por cada sorriso que já compartilhamos juntos, eu sou grata. Vocês são a minha força, a minha felicidade, a minha vida e eu os amo muito.

À Mônica, Virgínia, Aline e Eveline (minhas irmãs), por todo cuidado, zelo e carinho que vocês sempre me ofertaram. Ao orgulho que vocês dizem sentir quando eu subo um degrau na minha vida profissional e ao me compararem com a força e a garra da mamãe ao persistir mesmo quando o caminho é tortuoso e nunca desistir.

Aos meus sobrinhos que tanto se destacam nas profissões e as mais novinhas que tanto ensinam por tanta força e garra que têm, obrigada pelo apoio de sempre.

Ao meu sogro (Renato), pelo acolhimento caloroso desde o primeiro dia em que entrei para esta família. Sou muito agradecida pela sua amizade e por saber que posso contar com você em todos os momentos.

Ao meu orientador, Anderson: Agradeço desde o primeiro momento, ao aceite inesperado, a me colocar em um lugar ao mundo onde eu jamais imaginei estar, por acreditar que eu conseguiria, pela paciência de sempre, pelos ensinamentos passados e por todas as oportunidades que me foram ofertadas. A certeza que fica é que cresci como pessoa e profissional graças a você. Saiba que em quase todos os momentos você esteve com a razão por mais que eu achasse o inverso, por mais cansada que eu estivesse, sua experiência e habilidade como pesquisador são ímpares, que bom que eu conheci você e tive essa sorte na orientação.

Ao meu professor, Frederico, essencial em tantos momentos, por todo o suporte para que esse trabalho fosse possível, por ser exemplo em dedicação, educação e ética. Por estar sempre determinado a me ajudar, mesmo quando o tempo estava escasso, eram sempre palavras de incentivo e apoio quer fosse aqui no Lamib, quer fosse no Oral Health na Indiana.

À minha banca examinadora, nas pessoas dos profs. Ana Maria, Catarina, Frederico, Sebástian e Simone, por todo o empenho, pelo carinho e pela condução do processo, tornando-o mais leve muitas vezes.

Aos coordenadores do PPGO nas pessoas dos Profs Yuri, Ricardo e Bianca, por todas as possibilidades ofertadas, desde a escolha e sugestão do meu orientador, quanto da ajuda para que fosse viável a minha experiência na Indiana.

Aos professores do PPGO, pelos ensinamentos ofertados e pelo exemplo de dedicação a vida acadêmica. Agradeço em especial a Simone, Franklin e Paulo Bonan pelo vínculo de afeto criado, pelas risadas divididas e pelas angústias

amenizadas. Sou grata também pela preocupação que vocês tiveram com o meu crescimento, me impulsionando a jamais desistir e a confiarem em mim quando eu mesma não podia mais.

Aos alunos e professores da minha instituição de trabalho que muitas vezes me alavancavam com olhares e palavras de orgulho pelo meu caminho escolhido, além de nutrirem meu amor pelo ensino e me fazerem sentir mais realizada ao longo dessa jornada.

Aos meus colegas de turma, 'a turma pioneira do Doutorado 2019", aos 19 integrantes, fomos e somos a melhor turma que já esteve em um doutorado, em especial aos amigos especiais que mais se destacaram durante esse doutorado, por tornarem essa jornada mais leve e divertida e por sempre me ajudarem nos momentos que necessitei.

As minhas bonequinhas, Rosa Helena e Sara, por todo apoio, por vocês serem do jeitinho que são, fortes, inteligentes e amigas, tenho muito orgulho de vocês duas, sei do potencial, sei da resiliência e da amizade, estarei sempre perto de vocês.

À Dra Angeles, Sebástian, Adam, Melissa, Reshma por toda ajuda durante minha jornada em IUPUI, em especial durante todo esse processo de ida aos EUA.

Ao Sebástian, que se tornou o maior amigo, muitos dias pai, muitos dias confidente, sendo suporte nos meus dias mais frios nos EUA, sou muito grata pela paciência e pelos conhecimentos divididos, você foi muito mais do que pedi a Deus nos meus dias distantes de casa, foi resolutivo, foi amigo, foi apoio dobrado, com certeza você foi o maior presente que ganhei nesse doutorado.

Ao Adam Kelly, o americano mais brasileiro que eu já conheci, não teria conseguido sem o seu apoio, sua gentileza e seus ensinamentos, as melhores aulas que já recebi, o menino mais paciente e inteligente do laboratório, se passasse mais tempo o faria a cada dia mais e mais brasileiro, me fez companhia quente nos dias mais frios da Indiana, me ajudou em tudo, ensinou com prazer e atenção, menino focado em tudo que faz, além de habilidoso.

Aos amigos que fiz na Indiana: Alan, Jhandira Daibelis, Bea, Gigi, Pâmela, Lalo, Manu, Gustavo, Dina, Dani, Júlia, e Diogo, obrigada pelos dias leves que pudemos viver enquanto aí estive.

Agradeço ao suporte dos meus amigos paraibanos, Delberlane, Virgínia, Manoela, Simone, Eliane, Suzana, Desi, Juliana, Roberta, Michely, Fernanda, Glória, que comemoram cada etapa desde a minha entrada no programa até a obtenção desse título tão esperado.

As minhas amigas de Infância: Patota, Ingrid, Adriana Rats, Verônica, Kelly, Adriana Pinga pelo incentivo de sempre, pela oportunidade de amizade tão sincera em tanto tempo,

Aos meus amigos e chefes e ainda aos ex-chefes: Glorinha, Andrê, Arlley, Sabrina pela paciência, pela oportunidade na Universidade, pela confiança nos cargos que já exerci e exerço até hoje, o meu sincero agradecimento.

Às minhas amigas bruxas de Guarabira: Tatyany, Anne e Dellifli, por tantas e tantas vezes ouvirem os meus choros e desabafos nos mais diferentes momentos dessa pós, por acreditarem que eu iria conseguir e por serem instrumento de Deus quando eu necessitava.

Às minhas escudeiras: Josy e Jana, meu sincero agradecimento por tanta confiança, tanta parceria, sempre sendo meu suporte durante os atendimentos, vocês são muito mais do que imaginei, não conseguiria desenvolver tanto se não fosse pela ajuda de cada uma.

Aos amigos de clínica, Taís, Brenna, Polliana, Cleide, Suele e Alexia, sendo suporte necessário e tendo paciência quando a minha estava bastante reduzida.

À minha amiga Manoela Capla, que sempre se dedicou e se ofereceu em me ajudar nos momentos mais oportunos, dando dicas, sendo companhia e mesmo agora estando dodói, me acompanha, torce por mim e sente orgulho da minha conquista, essa defesa será comemorada com você, saiba que me espelho na sua força e que você poderá contar mais comigo na sua cura quando isso acabar.

Aos meus irmãos por parte de pai, principalmente o pesquisador que temos entre eles, um orgulho tão grande da pessoa que você se tornou.

À Cristina, que trabalha comigo há 15 anos e me ajuda a dividir a responsabilidade das crianças, numa genialidade tornando tudo tão mais fácil, saiba que se assim não fosse, eu não conseguiria realizar a metade de tudo que consigo, faço porque sei que tenho essa alavanca suportado tudo atrás de mim.

À toda a minha família, na representação das minhas primas, tias e primos que sentem tanto orgulho e tanta satisfação ao saberem que segui os passos do estudo sempre, como minha mãe nos ensinou a fazer desde cedo.

Enfim, a cada um que se propõe a fazer com que eu seja melhor, que eu conquiste mais e mais, sejam nas figuras das minhas crianças no consultório, sejam alunos, conhecidos, estagiários, a cada um que torce intimamente para que eu cresça e almeje sempre mais sem desistir, que esses 4 longos anos reflitam e façam valer o esforço da persistência, do sonho no momento que ele deva acontecer, sem tantas regras, sem tantos desafios, mas num mérito grande de quem nunca recebeu nada fácil, mas que sempre teve gratidão por tudo que recebeu.

"O que ela tem?"

Ela tem uma sensibilidade na alma e um sangue nos olhos.

"Então, ela tem o suficiente", disse-me.

Por quê? "Porque ela é doce e forte, porque ela ama e luta, porque ela é o início da guerra e a certeza da vitória".

Samer Agi

#### **RESUMO**

Condições patológicas dos tecidos dentários duros podem ser de natureza pré ou pós-eruptiva, como fluorose do esmalte e desgaste dentário erosivo (DDE), respectivamente. A fluorose é causada pela ingestão crônica e excessiva de flúor durante o desenvolvimento do esmalte, levando ao aumento da concentração de flúor e da porosidade. O DDE resulta da exposição dos dentes a ataques ácidos associados ou não a abrasão, levando a perda de estrutura dentária e alterações morfológicas. Este estudo in vitro testou a hipótese de que o esmalte fluorótico apresenta diferentes susceptibilidades à erosão-abrasão dentária. O delineamento experimental utilizado foi fatorial 3×3×2, considerando: a) severidade da fluorose: sadia (TF0), moderada (TF1-2), severa (TF3-4); b) desafio abrasivo: baixo, médio, alto; e c) desafio erosivo: sim, não. Um total de 144 dentes humanos foram selecionados de acordo com os três níveis de severidade da fluorose (n=48), e subdivididos em seis grupos (n=8) gerados pela associação dos diferentes desafios erosivos e abrasivos. Blocos de esmalte (4×4mm) foram preparados a partir de cada dente e suas superfícies de esmalte natural (sem preparo) submetidas a um modelo de ciclagem de erosão-abrasão, utilizando ácido cítrico a 1% com pH em torno de 2,4. Após a ciclagem, a profundidade do desgaste das lesões em esmalte foi avaliada para comparação com as medições iniciais feitas por perfilometria. A exposição ácida causou significativamente maior perda de superfície do esmalte do que a água (p<0,001). A ANOVA mostrou que as interações triplas e duplas entre os fatores não foram significativas (p>0,20). O nível de fluorose do esmalte (p=0,638) e o nível de abrasão (p=0,390) não tiveram efeito significativo na profundidade da lesão. Neste estudo in vitro, a fluorose, independentemente do nível de severidade não afetou a susceptibilidade do esmalte à erosão-abrasão dentária.

#### **DESCRITORES:**

Fluorose Dentária, Erosão Dentária, Abrasão Dentária, Esmalte Dentário, Desgaste Dentário

#### **ABSTRACT**

Pathological conditions of hard dental tissues can be pre- or post-eruptive in nature, such as enamel fluorosis and erosive tooth wear (ETW), respectively. Fluorosis is caused by chronic and excessive fluoride ingestion during enamel development, leading to increased fluoride concentration and porosity. ETW results from exposure of teeth to acid attacks associated or not with abrasion, leading to loss of tooth structure and morphological changes. This in vitro study tested the hypothesis that fluorotic enamel presents different susceptibilities to dental erosion-abrasion. The experimental design used was a 3×3×2 factorial, considering: a) fluorosis severity: healthy (TF0), moderate (TF1-2), severe (TF3-4); b) abrasive challenge: low, medium, high; and c) erosive challenge: yes, no. A total of 144 human teeth were selected according to the three levels of fluorosis severity (n=48), and subdivided into six groups (n=8) generated by the association of different erosive and abrasive challenges. Enamel blocks (4×4mm) were prepared from each tooth and their natural enamel surfaces (unprepared) subjected to an erosion-abrasion cycling model using 1% citric acid with pH around 2.4. After cycling, the depth of wear of the enamel lesions was evaluated for comparison with the initial measurements made by profilometry. Acid exposure caused significantly more enamel surface loss than water (p<0.001). ANOVA showed that the triple and double interactions between the factors were not significant (p>0.20). Enamel fluorosis level (p=0.638) and abrasion level (p=0.390) had no significant effect on lesion depth. In this in vitro study, fluorosis, regardless of the level of severity, did not affect enamel susceptibility to tooth erosion-abrasion.

#### **DESCRIPTORS**

Dental Fluorosis, Dental Erosion, Dental Abrasion, Dental Enamel, Tooth Wear

### LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, SÍMBOLOS E PALAVRAS DE LÍNGUA ESTRANGEIRA

DDE Desgaste Dentário Erosivo

TFI Índice de Thylstrup e Fejerskov (Fluorose)

Micro-CT Microtomografia Computadorizada Tridimensional de Raios-x

® Marca Registrada

rpm Rotações por minuto

g Grama

cm Centímetro

LABIO Laboratório Integrado de Biomateriais

mm Milímetro

LAMIB Laboratório de Microscopia e Imagem Biológica

μm Micrômetro

in vitro Do latim, em laboratório

R<sup>2</sup> Coeficiente De Determinação

IC95% Intervalo de Confiança de 95%

μm. g/cm<sup>3</sup> Micrômetro por Grama por Centímetro Cúbico

NaCl Cloreto de Sódio

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Fosfato Dipotássico

CaCl<sub>2</sub> Cloreto de Cálcio

F Flúor

KCI Cloreto de Potássio

mL/mm<sup>2</sup> Mililitro por Milímetro Quadrado

TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFPB Universidade Federal da Paraíba

pH Potencial Hidrogeniônico

kV Kilo Volt

μA Micro Ampére

n Número Amostral

3D Tridimensional

dP Desvio Padrão

LD Profundidade a Lesão (Lesion Depth)

IUPUI Indiana University Purdue University of Indianapolis

CCS Centro de Ciências da Saúde

Min Minutos h Horas

mg Miligrama kg Kilograma Por cento

p Probabilidade

< Menor que

°C Grau Celsius

> Maior que

CAMS Cristiane Araújo Maia Silva

#### **LISTA DE FIGURAS**

Figura	1. Sequência	diária de	ciclagem	de	erosão	e da	erosão	-abrasão	o41
--------	--------------	-----------	----------	----	--------	------	--------	----------	-----

#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tabela ANOVA – Resultados da análise de variância para os f	
estudo e suas interações	4 1
Tabela 2. Estatística descritiva de grupos experimentais	42
Tabela 3 - Escala para a interpretação do método estatístico Kappa	70
Tabela 4 - Composição para preparo de saliva artificial	72
Tabela 5 - Composição e abrasividade das pastas abrasivas	73

#### SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1.	Fluorose dentária	16
2.1.1.	Definição, Ocorrência, Características Clínicas e Morfológicas	16
2.1.2.	Prevalência da Fluorose	17
2.2.	Desgaste Dentário Erosivo	18
2.2.1.	Definição e Fatores Etiológicos	18
2.2.2.	Prevalência e fatores de risco associados ao Desgaste Dentário Erosivo.	20
2.2.3.	Prevenção e controle do Desgaste Dentário Erosivo	21
2.3.	Desgaste Dentário Abrasivo	25
2.3.1.	O papel da abrasão no desgaste dentário patológico	25
2.3.2.	Abrasividade das Pastas Dentárias	26
2.3.3.	Desgaste Dentário Abrasivo	27
3.	OBJETIVOS	29
3.1.	Objetivo Geral	29
3.2.	Objetivos Específicos	29
4.	CAPÍTULO 1	30
ABST	RACT	31
INTRO	DDUCTION	32
MATE	RIALS AND METHODS	33
Exper	imental Design	33
Teeth	Selection	33
Specii	men Preparation	33
Erosic	on-Abrasion and Abrasion Cycling	34
Profile	ometric Analysis	34
Statist	tical Analysis	34
RESU	LTS	35
DISC	JSSION	35
CONC	CLUSION	37
STAT	EMENT OF ETHICS	38
ACKN	IOWLEDGEMENTS	38
REFE	RENCES	39

FIGURE & TABLES	41
5. DISCUSSÃO	43
6. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXO	60
ANEXO A - Certidão de Aprovação Do Comitê de Ética (UFPB)	60
ANEXO B – Certidão de Aprovação Do Comitê de Ética (IUPUI)	63
APÊNDICE	66
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	66
APÊNDICE B – Percurso Metodológico	69

#### 1. INTRODUÇÃO

O desgaste dentário erosivo (DDE) é uma condição multifatorial que tem recebido crescente atenção nas últimas décadas (Schlueter & Luka, 2018) e afeta diferentes faixas etárias (Jaeggi & Lussi, 2014). O DDE desenvolve-se como consequência da exposição excessiva das superfícies dentárias a ácidos intrínsecos ou extrínsecos de origem não bacteriana (Schlueter et al., 2020). O DDE intrínseco está associado à anorexia nervosa, bulimia nervosa e condições com regurgitação frequente de ácidos gástricos, enquanto o DDE extrínseco está relacionado principalmente a dietas acídicas (Jaeggi & Lussi, 2014; Lussi & Carvalho, 2014), condições ambientais, medicamentos e mudanças no estilo de vida (Donovan et al., 2021). A exposição aos ácidos faz com que as superfícies do esmalte se tornem amolecidas e então susceptíveis ao desgaste abrasivo, levando à perda estrutural progressiva (Lussi et al., 2011). Revisões sistemáticas (Van't Spijker et al., 2009; Kreulen et al., 2010) relataram alta prevalência de DDE, com a frequência do DDE severo aumentando de 3% aos 20 anos para 17% aos 70 anos, uma vez que, níveis crescentes de desgaste dentário estão significativamente associados à idade (Van't Spijker et al., 2009; Kreulen et al., 2010).

Uma vez que o fluoreto é capaz de reduzir a cárie, a sua aplicação para evitar o DDE tem sido sugerida (Bartlett; Smith; Wilson, 1994). O mecanismo de ação dos fluoretos em DDE parece decorrer da formação de uma barreira mecânica por meio da deposição de fluoreto de cálcio na superfície dentária (Magalhães; Rios; Buzalaf, 2008). A quantidade de fluoreto de cálcio formado é diretamente relacionada à sua concentração, tempo de exposição e menor pH do meio, sendo que a sua dissolução em condições erosivas, temporariamente protege o esmalte subjacente (Saxegaard & Rolla, 1988; Ganss et al., 2004). Além da barreira mecânica, quando do uso de fluoretos de metais polivalentes um revestimento ácido resistente rico em metais precipita sobre a superfície (Schlueter et al., 2009; Ganss et al. 2010). De acordo com Magalhães, Rios e Buzalaf (2008), na presença de fluoreto suficiente no meio bucal haverá a formação de hidroxiapatita fluoretada, tornando o esmalte menos solúvel aos próximos desafios ácidos. Os compostos de flúor são conhecidos por reduzir a dissolução do dente e, em alguns casos, aumentar a resistência do dente a ácidos erosivos com efeito preventivo limitado (Bezerra et al., 2019).

Por outro lado, sabe-se que a exposição excessiva ao flúor durante o período de formação do esmalte pode levar à fluorose do esmalte. Estudos têm demonstrado que o esmalte com fluorose é hipomineralizado e apresenta maior teor de flúor (den Besten, 1994; Vieira et al., 2005; Martinez-Mier et al., 2016). Dados do Saúde Bucal Brasil 2010 apontaram que 16,7% das crianças de 12 anos apresentavam fluorose onde 15,1 % delas com a severidade variando entre muito leve e leve e ainda 1,5% com severidade moderada O esmalte fluorótico é mais poroso, o que diminui sua resistência ao desgaste mecânico; mas também rico em flúor, o que poderia potencialmente aumentar sua resistência à desmineralização (Fejerskov et al., 1994). Embora alguns estudos *in vitro* tenham sido realizados para testar se o maior teor de flúor no esmalte o protegeria da desmineralização devido à simulação de cárie, não há estudos relatando se o esmalte fluorótico apresentaria susceptibilidade diferente à erosão-abrasão dentária.

Este estudo *in vitro* testou a hipótese de que o esmalte fluorótico com diferentes graus de severidade é mais susceptível ao desenvolvimento de desgaste de erosão-abrasão dentária, quando comparado ao esmalte sadio.

#### 2. REVISÃO DA LITERATURA

#### 2.1. Fluorose dentária

#### 2.1.1. Definição, Ocorrência, Características Clínicas e Morfológicas

A fluorose dentária é um distúrbio estético específico, que pode ser descrito como uma condição crônica, onde o desenvolvimento do esmalte é alterado e o esmalte resultante é hipomineralizado (Fejerskov et al., 1990). A fluorose do esmalte é um distúrbio do desenvolvimento estrutural irreversível causado pela ingestão de níveis supra-ótimos de flúor durante a primeira infância durante a amelogênese (denBesten & Li, 2011; Lyaruu et al., 2014), esse consumo excessivo de fluoretos resulta nesse grave problema de saúde pública (Revelo-Mejía et al., 2020). A fluorose pode causar um impacto psicológico significativo em um paciente, podendo ser tão prejudicial quanto uma cicatriz facial ou um defeito de nascença (Bharath et al., 2014).

Os defeitos do esmalte consistem em finas manchas/ linhas horizontais, opacidades (porosidades de subsuperfície), descolorações e poços de vários tamanhos, no entanto, o mecanismo molecular subjacente à fluorose do esmalte ainda é desconhecido. Formação do esmalte por ameloblastos corresponde a um evento de 2 etapas. Primeiro, os ameloblastos secretores sintetizam e secretam uma matriz rica em amelogeninas, em que são formadas longas fitas de cristal fino. Na fase de maturação, a maior parte da matriz é removida e os cristais se expandem. Os ameloblastos de maturação têm funções de transporte de íons, reabsorção e degradação e se transformam ciclicamente em 1 de 2 tipos de células morfologicamente distintas: terminadas em babados ou ameloblastos de extremidade lisa. O pH do esmalte abaixo dessas células muda de ligeiramente ácido para neutro (denbesten & Li, 2011), por razões desconhecidas, o estágio de maturação é sensível ao flúor (Lyaruu et al., 2014). As alterações fluoróticas no esmalte são mais graves se os estágios de secreção e maturação forem expostos ao flúor (Bronckers et al., 2009).

A fluorose está associada ao excesso de liberação de prótons durante a formação de linhas hipermineralizadas na matriz mineralizante do esmalte. Essas

linhas hipermineralizadas induzidas por flúor podem formar barreiras que impedem a difusão de proteínas, como a protease, e íons minerais nas camadas subsuperficiais, retardando ou inibindo a biomineralização e causando retenção de proteínas da matriz do esmalte (Lyaruu et al., 2014; Di Giovanni et al., 2018). Consequentemente, a fluorose do esmalte refere-se ao mosqueado da superfície do dente que é causada pela exposição ao flúor (Revelo-Mejía et al., 2020).

Opticamente, a fluorose dentária é caracterizada por hipomineralização do esmalte dentário, visto como manchas e estrias brancas, opacas, difusas, simétricas e descoloridas. As alterações variam de áreas opacas brancas como giz, resultantes da hipomineralização da subsuperfície, a poços e sulcos, e com maior gravidade com maior coloração pós-erupção, o esmalte nessa condição é mais macio e quebra facilmente (Bronckers et al., 2009). Lesões na superfície do esmalte, como *pitting* (poços), porosidade, e áreas acastanhadas ocorrem frequentemente nas formas mais severas de fluorose (Fejerskov et al., 1990). Dependendo da quantidade de absorção de flúor, duração da exposição ao flúor e estágio da amelogênese a gravidade dos sintomas varia e requer medidas diferentes (Bertassoni et al., 2008), já que há um crescimento anormal dos cristais de apatita, aumentando o teor de flúor e a porosidade, gerando como consequências, as alterações ópticas e físicas da superfície dentária (Di Giovanni et al., 2018).

#### 2.1.2. Prevalência da Fluorose

Concomitante ao declínio mundial da cárie, a prevalência da fluorose do esmalte aumentou nas últimas duas décadas (Aoba & Fejerskov, 2002; Bharath et al., 2014). Isso pode ser explicado pelo excesso de flúor ingerido proveniente de medidas de prevenção de cárie como pastas dentárias, enxaguantes bucais, géis ou vernizes que são incorporados ao esmalte durante o desenvolvimento dos dentes. No entanto, além das fontes naturais, o flúor pode ser encontrado como um subproduto contaminante derivado de vários processos industriais como queima de carvão, semicondutores, galvanoplastia, vidro, aço, cerâmica e indústrias de fertilizantes (Guijian et al., 2007). O flúor também está presente em alguns alimentos e bebidas, especialmente chás e frutos do mar, em concentrações variadas (Zohoori et al., 2015) Isso, em excesso, sendo ingerido leva a uma

formação perturbada do esmalte (Bronckers et al., 2009), pois o flúor reduz a concentração de íons cálcio na matriz, interferindo indiretamente na atividade da protease e retardando ou inibindo a degradação da proteína da matriz do esmalte (Robinson et al., 2004). Observa-se um crescimento anormal de cristais de apatita, que tem como consequências alterações óticas e físicas da superfície do dente (Ng F & Manton, 2007).

Embora a percepção estética da mancha de esmalte seja variável entre os individuos, isso pode ter efeitos psicossociais consideráveis em muitos pacientes e afetar sua qualidade de vida (Bertassoni et al., 2008; Celik et al., 2013) Portanto, esforços consideráveis têm sido feitos na identificação de um meio eficaz para tratar manchas fluoróticas que possam ser escolhidos de acordo com a gravidade da lesão (Khandelwal et al., 2013).

#### 2.2. Desgaste Dentário Erosivo

#### 2.2.1. Definição e Fatores Etiológicos

Grande parte de clínicos e pesquisadores têm dado forte atenção ao DDE frente ao aumento contínuo da prevalência e incidência (Jaeggi & Lussi, 2014; Salas et al., 2015; Racki et al., 2019), determinando a necessidade de compreensão da sua dinâmica de desenvolvimento para que medidas preventivas sejam satisfatoriamente estabelecidas (Schlueter et al., 2011; Carvalho et al., 2016, Kanzow et al., 2016; Donovan et al., 2021).

O DDE é descrito como uma perda irreversível de tecido dentário duro causada por ácidos não-bacterianos de origem extrínseca ou intrínseca ou pela associação de ambos (Imfeld, 1996; Lussi et al, 2004; Margaritis et al, 2020; Donovan et al, 2021. Os Conceitos atuais o descrevem como uma perda de estrutura progressiva, (Shellis et al., 2011; Lussi & Carvalho, 2014; Carvalho et al., 2016) que, no estágio inicial, ocorre apenas pelo amolecimento do esmalte e consequente perda da sua integridade estrutural e resistência mecânica. Os efeitos químicos, dependendo do grau de acometimento são passíveis de remineralização, caso haja suspensão do ácido, podendo até ser inibido (Lussi, 2014; Carvalho et al., 2016; Donovan et al., 2021).

Clinicamente, o DDE apresenta uma perda da textura superficial, morfologia e contorno, com ausência de periquimácias. Assim sendo, se observam

superfícies dentárias lisas e brilhantes pois há a dissolução dos cristais de esmalte camada por camada; culminando em uma perda permanente de volume (Silva et al., 2021), pode ainda resultar em estética prejudicada, estrutura dentária comprometida e até mesmo perda de qualidade de vida (Martignon et al., 2019).

É um fenômeno que dificilmente ocorre de forma isolada, mas sim de forma sinérgica, sequencial e aditiva com outros tipos de desgastes dentários, como a abrasão (Teixeira et al., 2017). Os sinais típicos de DDE nas superfícies oclusais são a escavação das cúspides e o achatamento das estruturas oclusais. Em estágios avançados, toda a morfologia oclusal pode desaparecer e superfícies côncavas podem se desenvolver, condição denominada "cupping". As restaurações podem ficar salientes em relação à superfície dentária adjacente. Sinais típicos de DDE em superfícies lisas são o achatamento da superfície e uma borda intacta ao longo da margem gengival. Podem ocorrer concavidades, normalmente mais largas do que profundas, essas lesões ocorrem em dentes permanentes e decíduos e podem se estender para a dentina. As lesões podem ser localizadas (em dentes unitários), generalizadas ou assimétricas, dependendo da etiologia (Carvalho et al., 2016). As características patognomônicas primárias são concavidades rasas em superfícies lisas que ocorrem coronalmente a partir da junção esmalte-cemento (Ganss & Lussi, 2014), podendo haver também escavação e ranhuras em oclusal (Wohlrab et al., 2019). As lesões se apresentam com uma aparência lisa e fundida de esmalte e dentina (Ranjitar et al., 2017).

O DDE pode ainda ser definido como a dissolução do dente por ácidos quando a fase aquosa circundante é subsaturada em relação ao mineral do dente (Larsen, 1990). Os sinais clínicos de progressão são hipersensibilidade dentinária e aparência opaca e gélida, bem como ausência de coloração da lesão (Carvalho et al., 2016).

O DDE se processa quando ocorre queda no pH do meio bucal, mas não existe um valor fixo de pH crítico para que isso aconteça, a s s i m c o m o é estabelecido para a cárie (pH entre 5,5 e 5,7). O valor do pH crítico depende da solubilidade do sólido em questão e da concentração dos minerais relevantes que constituem a solução erosiva. No caso do tecido mineral, os constituintes de interesse são o cálcio, o fosfato e em menor extensão o fluoreto. Esses minerais determinam o grau de saturação da solução, considerada a força motriz tanto para

a dissolução, quanto para a precipitação mineral (Lussi et al., 2011; Lussi et al., 2012; Silva et al., 2021).

A microdureza da superfície remanescente é reduzida, aumentando a susceptibilidade ao desgaste físico e o desgaste erosivo dos dentes podendo levar à formação de dentina reacionária ou reparadora (Ganss et al., 2014).

Essa condição tem sido muitas vezes descrita unicamente como sendo um fenômeno superficial, ao contrário da cárie dentária, identificada por seus efeitos destrutivos envolvendo tanto a superfície como a região subsuperficial. Contudo, conforme salientaram Lussi & Carvalho (2014), o DDE também causa a dissolução do mineral dentro da camada amolecida, abaixo da superfície, não sendo, portanto, um fenômeno exclusivamente superficial. Desse modo, o termo "desmineralização próxima à superfície" tem sido sugerido para designar a desmineralização ocorrida em lesões de DDE, diferenciando-a do processo que ocorre em lesões de cárie (Shellis et al., 2013).

## 2.2.2. Prevalência e fatores de risco associados ao Desgaste Dentário Erosivo

Quanto à prevalência da condição do DDE, costuma-se dizer que é uma condição comum na população geral de países desenvolvidos e está se tornando cada vez mais prevalente. Há uma grande dificuldade em se comparar os vários estudos e estimar a prevalência, devido as variações dos índices, tamanhos da amostra e desenhos gerais de estudo. Schlueter & Luka (2018) tiveram uma prevalência média em dentes decíduos entre 30% e 50% e em dentes permanentes foi entre 20% e 45%. Parece haver uma diferença de gênero, onde há uma tendência para mais homens do que mulheres e um aumento na prevalência com o avanço da idade.

Os grupos de risco que apresentaram um impacto claro na prevalência do DDE foram os pacientes com doença do refluxo gastroesofágico e os pacientes com distúrbios alimentares associados a vômitos (Schlueter & Luka, 2018). Em pessoas que consomem alimentos e bebidas ácidas, um risco maior pode ser encontrado para alguns itens alimentares específicos. No entanto, faltam estudos epidemiológicos controlados, dificultando a generalização. Há uma clara necessidade de estudos bem desenhados sobre esta questão. O DDE é uma

condição multifatorial, logo, para prevenir e controlar sua progressão, é importante detectá-la o mais precocemente possível. O conhecimento abrangente dos diferentes fatores de risco é um pré-requisito para iniciar medidas preventivas adequadas (não interventivas) e, se necessário, terapêuticas (interventivas) (Lussi & Jaeggi, 2008).

Acredita-se que as mudanças no estilo de vida, nos padrões alimentares e de higiene, estudadas nos últimos anos, aumentam o número de pacientes diagnosticados com defeitos de tecidos dentários duros não cariosos, incluindo o DDE. O consumo de alimentos e bebidas ácidas tem aumentado consideravelmente, tanto em quantidade, quanto em frequência. Além dos hábitos de higiene dentária e do nível socioeconômico, a dieta é o fator de risco da doença mais frequentemente estudado (Rusyan et al., 2022).

Há ainda o DDE ocupacional onde o desgaste é encontrado em trabalhadores de indústrias manufatureiras que há muito usam ou produzem ácidos, como ácido sulfúrico, ácido nítrico e o ácido clorídrico, também é encontrado em trabalhadores empregados em fábricas que produzem corantes e pólvora, metalização, baterias de armazenamento e fertilizantes (Sato et al., 2021).

#### 2.2.3. Prevenção e controle do Desgaste Dentário Erosivo

Diante do entendimento de que o DDE tem etiologia multifatorial, o desenvolvimento de abordagens preventivas para evitar a dissolução do tecido dentário tem se tornado cada vez mais importante. A avaliação dessa progressão é necessária, pois determina se as medidas preventivas ou as intervenções implementadas serão bem-sucedidas, e pode ajudar na tomada de decisão sobre quando e como restaurar dentes desgastados (Carvalho et al.,2016; Donovan et al., 2021). Tais medidas preventivas devem ser iniciadas o mais precocemente possível e precisam incluir, além da redução dos desafios erosivos, condição que depende da mudança de hábitos do indivíduo, estratégias para potencializar os fatores protetores naturais, de modo a permitir o equilíbrio do ambiente bucal (Lussi & Carvalho, 2014).

Dentre os fatores de proteção natural, a saliva é considerada o componente biológico com melhor potencial para modificar a progressão do DDE (Hara et al., 2006; Buzalaf et al., 2014; Carvalho et al., 2016). O mecanismo de proteção salivar

inclui a ação de limpeza, capacidade tampão (Donovan et al., 2021) e formação da película salivar adquirida (Carvalho et al.,2016; Donovan et al., 2021). Esta película atua como uma barreira de difusão natural (Buzalaf et al., 2012) e como consequência da atuação há uma diminuição na taxa de difusão de íons cálcio e fosfato ao redor da fase fluida do esmalte dentário, após a exposição a condições ácidas, protegendo assim contra a desmineralização do tecido mineral duro, (Buzalaf et al., 2012).

A saliva protege contra o DDE de várias maneiras: dilui as substâncias ácidas e as remove da boca, amortecendo e neutralizando os produtos ácidos, reduzindo assim os episódios erosivos. Finalmente, as proteínas salivares são a fonte da película salivar adquirida, que reduz o desgaste ácido. Portanto, o fluxo salivar reduzido é um fator de risco para o DDE. Esse fluxo pode ser reduzido, por: altos níveis de exercícios, doença sistêmica (por exemplo, síndrome de Sjögren), certos medicamentos (anti-hipertensivos, antidepressivos) (Carvalho et al., 2016). Ademais, o nível de bicarbonato na saliva é positivamente correlacionado com a taxa de fluxo salivar, o que significa que a saliva produzida em alto fluxo apresenta maior pH e maior capacidade de tamponamento (Moss, 1998).

O DDE é uma condição multifatorial, logo, para prevenir e controlar sua progressão, é importante detectá-lo o mais antecipadamente possível. Alguns fatores oclusais têm sido associados à progressão do desgaste dentário, indivíduos com diferentes más oclusões demonstraram diferentes padrões de desgaste dentário, então, a função mastigatória também tem sido associada ao desgaste dentário (Gkantidis et al., 2021).

O conhecimento abrangente dos diferentes fatores de risco é um prérequisito para iniciar medidas preventivas adequadas (não interventivas) e, se necessário, terapêuticas (interventivas) (Lussi & Jaeggi, 2008). A lesão erosiva em estágios iniciais normalmente não requer tratamento adicional se o agente causador for eliminado ou a perda de substância detida por medidas profiláticas.

As percepções dos pacientes odontológicos parecem ser incompatíveis com os impactos epidemiológicos e clínicos do DDE. A falta de conscientização do paciente é preocupante porque as percepções dos pacientes podem não apenas direcionar a identificação de tais condições dentárias, mas também influenciar a relevância do DDE como uma questão clínica a ser abordada por meio do autocuidado e do cuidado profissional (Goldfarb et al., 2019; Rusyan et al., 2022).

Em um estudo com adolescentes de 15 anos na Polônia (Rusyan et al., 2022), observou se que é necessária uma melhor compreensão das interações entre os fatores sociais, econômicos e comportamentais que influenciariam no desenvolvimento de leões erosivas na perspectiva da implementação das medidas profiláticas e terapêuticas corretas. O principal problema foi o baixo nível de conhecimento dos adolescentes examinados, fato que poderia corresponder a uma semelhante falta de conhecimento em seus pais e responsáveis que não foram abrangidos no estudo. O nível de conhecimento dos adolescentes sobre a etiologia do desgaste erosivo foi insatisfatório e a maioria dos participantes desconheciam os efeitos destrutivos dos ácidos dietéticos (Rusyan et al., 2022).

Um programa preventivo e de controle proposto por Serra et al. (2009) que foi citado no consenso europeu inclui: o tratamento da desordem ou doença gastrointestinal, caso esta seja a etiologia do DDE, através do encaminhamento para o médico especialista (Amaechi & Higham, 2005; Carvalho et al.,2016); redução dos desafios erosivos e aprimoramento das defesas salivares, dentre outras formas conseguidas pelo uso de goma de mascar após as refeições (Lussi et al., 2009); neutralização do ácido, por exemplo através do bochecho de bicarbonato de sódio após os desafios (Amaechi & Higham, 2005); aumento do potencial remineralizador, pelo uso do fluoreto (Carvalho et al., 2016).

Em Cariologia, a inibição da desmineralização do esmalte com fluoretos tem sido estudada em muitas combinações de condições desmineralizadoras e concentrações de fluoretos (ten Cate & Duijsters, 1983). O fluoreto tem sido reconhecido por aumentar a remineralização e reduzir a desmineralização do esmalte em meio ácido, especialmente, em condições cariogênicas (Duckworth, 1993; Lagerweij & ten Cate, 2002). Isso ocorre em função do efeito da difusão dos íons de flúor no interior do esmalte subsuperficial e de sua aderência na superfície dos cristais de hidroxiapatita, além da presença do fluoreto no fluido da placa, que aumenta a supersaturação e acelera a remineralização em pH acima de 4,5 (Buzalaf et al., 2012).

Uma vez que o fluoreto é capaz de reduzir a cárie, a sua aplicação para evitar a perda erosiva de esmalte tem sido sugerida (Bartlett et al., 1994). Pesquisas avaliaram a aplicação de diferentes tipos de fluoretos em condições erosivas, dentre eles, o fluoreto de amina (Wegehaupt et al., 2009), fluoreto de sódio (Ganss et al., 2008), monofluorfosfato (Kato et al., 2010), tetrafluoreto de titânio (Wiegand

et al., 2008; Wiegand et al., 2010; Vieira et al., 2011; Magalhães et al., 2012) e fluoreto estanhoso (Ganss et al., 2010; Huysmans et al., 2011).

O mecanismo de ação dos fluoretos no DDE parece decorrer da formação de uma barreira mecânica por meio da deposição de fluoreto de cálcio na superfície dentária (Magalhães et al., 2008). A quantidade de fluoreto de cálcio formado é diretamente relacionada à sua concentração, tempo de exposição e menor pH do meio, sendo que a sua dissolução em condições erosivas, temporariamente protege o esmalte subjacente (Saxegaard & Rolla, 1988; Ganss et al., 2004).

Além da barreira mecânica, quando do uso de fluoretos de metais polivalentes um revestimento ácido resistente rico em metais precipita sobre a superfície (Schlueter et al., 2009; Ganss et al. 2010). De acordo com Magalhães et al. (2008), na presença de fluoreto suficiente no meio bucal haverá a formação de hidroxiapatita fluoretada, tornando o esmalte menos solúvel aos próximos desafios ácidos. Contudo, caso a remineralização seja seguida de um novo desafio ácido severo, mesmo a hidroxiapatita fluoretada sendo mais resistente pode ser solubilizada, resultando em DDE. Assim sendo, independentemente do mecanismo de atuação, e em função da curta duração da proteção oferecida existe a necessidade de aplicação frequente do agente preventivo e diferentes veículos podem ser utilizados para a aplicação. Para uso domiciliar, o uso de pastas e enxaguatórios são os mais comuns, usualmente em concentrações iguais ou inferiores a 1500 ppm. Para uso profissional, soluções, géis e vernizes podem ser empregados, geralmente em altas concentrações, acima de 1,25% (Huysmans et al., 2014).

Nos últimos anos, diferentes agentes têm sido discutidos como potenciais alternativas ao uso do fluoreto para prevenção e controle do DDE. Estes recursos baseiam-se em alternativas ao uso do íon fluoreto e incluem a deposição de camadas de barreira protetora, seja pelo uso de selantes ou polímeros capazes de depositar e proteger as superfícies dos dentes contra o ataque ácido erosivo. Além disso, dados sugerem que certos inibidores de protease, particularmente quando formulados como géis, podem ser valiosos na preservação da matriz orgânica da dentina, potencialmente reduzindo a progressão do desgaste erosivo, como o uso de adesivos, selantes ou produtos que contenham polímeros que agem na preservação da matriz orgânica da dentina (Buzalaf et al., 2014).

A maioria das abordagens preventivas, no entanto, baseiam-se em substâncias aplicadas sobre o tecido afetado, esmalte ou dentina (Wegehaupt et al., 2011). Todavia, o DDE de origem extrínseca, é geralmente decorrente do contato de uma bebida ácida com o tecido dentário duro (Lussi et al., 2004), de modo que a prevenção do DDE pela modificação de substâncias erosivas, principalmente bebidas ácidas, pode ser uma medida viável (Wegehaupt et al., 2011). O DDE tem natureza progressiva e destrutiva, desenvolve-se de forma silenciosa e assintomática, sendo o indivíduo afetado comumente inconsciente e desinformado. Além disso, seu estabelecimento precoce justifica a investigação de possíveis indicadores de risco em populações jovens (Racki et al., 2019), é um problema significativo para um número crescente de pacientes e é importante que os profissionais de saúde bucal sejam treinados para reconhecer os primeiros sinais de DDE para que estratégias e protocolos eficazes possam ser implementados para prevenir sua progressão e reduzir a necessidade de odontologia restauradora extensa (Donovan et al., 2021).

O DDE tornou-se um assunto relevante em odontologia, nutrição e saúde pública. Os profissionais de odontologia e saúde devem fornecer ativamente informações educativas a respeito do desgaste aos indivíduos e comunidades e motivá-los a se desvincular de comportamentos não saudáveis e ainda do consumo de bebidas ácidas. Sucessivas investigações sobre a complexidade dos comportamentos de consumo de bebidas e o desenvolvimento de estratégias eficazes para o consumo saudável são indicadas (Schmidt & Huang, 2022).

#### 2.3. Desgaste Dentário Abrasivo

#### 2.3.1. O papel da abrasão no desgaste dentário patológico

Muitos fatores contribuem para uma adequada higiene bucal, incluindo aspectos relacionados às pastas dentárias. Estas funcionam como veículos de ingredientes ativos com funções terapêuticas, cosméticas e inativos como detergentes, umectantes e aromatizantes (Lippert, 2013; Stookey, 2017).

Os componentes abrasivos são fundamentais para remover manchas da superfície dentária, também melhoram a eficiência da escovação. Historicamente, abrasivos na forma de pó ou pasta dentária têm sido usados para fins de limpeza

dentária desde os tempos antigos. Os antigos egípcios esfregavam os dentes com uma mistura de cinzas de cascos de boi, cascas de ovos queimadas e pedrapomes. Já os gregos antigos usavam uma mistura de conchas queimadas, coral, talco, sal e mel, enquanto antigos romanos usavam uma mistura de ossos esmagados e conchas de ostras mais carvão em pó e casca (Newbrun, 1996; Stookey, 2017). Mais recentemente, no século 18, os relatórios indicavam que os britânicos incluíam aos abrasivos na forma de pó, o pó de tijolo e a porcelana triturada (Lippert, 2013).

Ao longo do tempo, a seleção e incorporação de abrasivos em pastas dentárias foram otimizadas, e atenção tem sido dada a alguns sistemas abrasivos específicos. No entanto, apesar do considerável contexto histórico, a grande variedade de pastas dentárias disponíveis com diferentes propriedades abrasivas exige um entendimento adequado de suas aplicações clínicas, bem como de potenciais preocupações de eficácia e segurança (Hara & Turssi, 2017).

#### 2.3.2. Abrasividade das Pastas Dentárias

Os abrasivos da pasta dentária, do ponto de vista da segurança, são frequentemente investigados pelos potenciais efeitos deletérios que causam durante a escovação. A pasta de dente ideal deve ter abrasividade suficiente para remover as manchas da superfície adequadamente sem danificar o dente, além da remoção do biofilme dentário (Hara & Turssi, 2017). Portanto, materiais excessivamente abrasivos podem desgastar a superfície do dente, resultando em desgaste dentário indesejável. Muitos fatores definem o grau de abrasividade de um determinado composto, incluindo seu nível de hidratação; o tamanho, dureza, forma e concentração de suas partículas; fonte; pureza; e como tem sido tratado física e quimicamente (Stookey, 2017).

Alguns fatores clínicos modulam o efeito desses abrasivos na superfície do dente, como rigidez da escova, pressão e frequência de escovação (Wiegand & Schlueter, 2014) e nível de mineralização do esmalte e da dentina. Alguns dos abrasivos odontológicos usados incluem sílica hidratada, alumina hidratada, carbonato de cálcio, dihidrato de fosfato dicálcico, pirofosfato de cálcio, metafosfato de sódio, perlita, nanohidroxiapatita, pó de diamante e bicarbonato de sódio (Lippert, 2013).

#### 2.3.3. Desgaste Dentário Abrasivo

O desgaste pode ser definido como a perda progressiva de material devido ao movimento relativo entre as superfícies e as substâncias em contato (d'Incal et al., 2012). No desgaste dentário abrasivo (DDA), o material é removido ou deslocado de uma superfície pela ação de partículas duras em movimento (d'Incal et al., 2012). É ainda conhecido como o desgaste patológico do tecido dentário duro resultante de processos mecânicos anormais envolvendo objetos ou substâncias estranhas (Schlueter et al., 2020).

O DDA é de particular importância porque pode resultar da escovação dos dentes. Pode ser oriundo das forças de atrito causadas pelas partículas abrasivas onde uma superfície desliza contra a outra. Esse deslizamento ocorre durante a escovação, onde parte dessas partículas abrasivas ficam presas sob as pontas dos filamentos da escova e arranham a superfície ao rolar e deslizar (Wiegand & Schlueter, 2014).

Essencialmente, o grau de abrasividade de um determinado composto depende de sua dureza, forma, tamanho e concentração de suas particulas (Lippert, 2012). No entanto, a magnitude do DDA pode variar de acordo com os aspectos comportamentais do movimento da escovação, como a pressão ou força, duração e frequência, assim como as características da escova de dentes em relação a rigidez das cerdas (macia, média, firme) e a geometria da ponta dos filamentos (Hara & Turssi, 2017; Sabrah et al., 2018). Em um cenário de escovação vigorosa com aplicação de carga excessiva, em que as cerdas da escova apresentem maior deflexão e, portanto, maior área de contato com a superfície do dente, maiores serão as chances de DDA (Turssi et al., 2019).

O aumento da carga do filamento da escova provavelmente aumenta a carga transmitida às partículas presas entre as pontas do filamento e as superfícies dentárias. Resultados de simulações em laboratório (Sabrah et al., 2013) mostraram que, dependendo da abrasividade da pasta dentária, o DDA pode ser mantido ou aumentado devido à duração da escovação. Quando uma pasta de dente pouco abrasiva é usada, o aumento da duração da escovação não desempenha um papel na perda de volume dos dentes. Em contrapartida, para

pastas dentárias altamente abrasivas, o DDA aumenta exponencialmente com a duração da escovação (Hara & Turssi, 2017).

Tendo em vista que a exposição a ácidos extrínsecos ou intrínsecos pode causar a dissolução de componentes inorgânicos da estrutura dentária, a depender de fatores químicos elativos ao agente potencialmente erosivo e fatores comportamentais e biológicos do individuo, pode-se constatar o amolecimento das camadas superficiais de esmalte e dentina (Lussi & Jaeggi, 2008). Quando este processo é seguido por escovação, pode ocorrer perda de superfície de forma acelerada, especialmente se a pasta dentária contiver componentes abrasivos (Ganss et al., 2016), recomendado pois, postergar a escovação. Embora a frequência de desafios ácidos na dieta possa ser considerada um dos fatores de risco mais importantes para defeitos de desgastes dentários (Bartlett et al., 2011), a interação entre a erosão ácida e a abrasão por escovação requer a utilização de um modelo misto em que desafios erosivos são complementados com escovação para simular a interação entre os dois processos (Nassar & Hara, 2021).

#### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Determinar a susceptibilidade do esmalte dentário fluorótico ao desgaste dentário erosivo/ abrasivo em um estudo *in vitro*.

#### 3.2. Objetivos Específicos

1. Investigar o efeito da severidade da fluorose dentária na erosão e abrasão; e 2. Avaliar a influência do grau de abrasividade da escovação neste processo.

#### 4. CAPÍTULO 1

O manuscrito a seguir foi submetido para publicação no periódico "Brazilian Oral Research" e encontra-se em análise.

### SUSCEPTIBILITY OF FLUOROTIC ENAMEL TO DENTAL EROSION-ABRASION

- 1. Cristiane Araújo Maia Silva
- Frederico Barbosa de Sousa
- 3. Esperanza A. Martinez-Mier
- 4. Adam Benjamin Kelly
- 5. George J. Eckert
- 6. Anderson T. Hara
- 1. School of Dentistry, Federal University of Paraiba, Joao Pessoa, Brazil.
- 2. Department of Morphology, Health Sciences Center, Federal University of Paraiba, Joao Pessoa, Brazil.
- 3. Department of Cariology, Operative Dentistry and Dental Public Health, Indiana University School of Dentistry, Indianapolis, IN, USA
- 4. Lab Supervisor Tooth Processing/Erosion Labs, Oral Health Research Institute, Indianápolis, IN, USA.
- 5. Department of Biostatistics, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN, USA.
- 6. Department of Cariology, Operative Dentistry and Dental Public Health, Indiana University School of Dentistry, Indianapolis, IN, USA.

**Short Title:** Fluorotic Enamel Susceptibility to Erosion- Abrasion

#### **Corresponding Author:**

Anderson Takeo Hara - Department of Cariology, Operative Dentistry and Dental Public Health - Indiana University School of Dentistry, 415 Lansing Street, Indianapolis, IN, 46202, USA.

E-mail: ahara@iu.edu

**Keywords:** Dental Fluorosis, Dental Erosion, Dental Abrasion, Dental Enamel.

#### **ABSTRACT**

Dental hard tissue conditions can be of pre- or post-eruptive nature, such as enamel fluorosis and erosive tooth wear (ETW), respectively. Dental enamel fluorosis is caused by the chronic and excessive intake of fluoride during enamel development, leading to increased fluoride concentration and increased porosity. Erosive dental wear is the exposure of teeth to chemical insults with acid as the main cause, with loss of the natural surface and morphology, the more the lesion progresses, the more it is related to abrasive wear occurring concomitantly. This in vitro study tested the hypothesis that fluorotic enamel presents different susceptibility to dental erosion-abrasion. It consisted of a 3×3×2 factorial design, considering a) fluorosis severity: sound (TF0), moderate (TF1-2), severe (TF3-4); b) abrasive challenge: low, medium, and high; and c) erosive challenge: yes, no. A total of 144 human teeth were selected according to the three fluorosis severity levels (n=48), and subdivided into six groups (n=8) generated by the association of the different erosive and abrasive challenges. Enamel blocks (4×4mm) were prepared from each tooth and their enamel without preparation surfaces subjected to an erosion-abrasion cycling model using 1% citric acid with a pH around 2,4. After cycling, the depth of the lesions in enamel was assessed for comparison with initial measurements made by profilometry. ANOVA showed that the three-way and two-way interactions among the factors were not significant (p>0.20). Enamel fluorosis level (p=0.638) and abrasion level (p=0.390) had no significant effect on lesion depth. Acid exposure caused significantly more enamel surface loss than water (p<0.001). In this model of in vitro study, fluorosis did not affect the susceptibility of enamel to dental erosionabrasion.

## **DESCRIPTORS**

Dental Fluorosis, Dental Erosion, Dental Abrasion, Dental Enamel, Tooth Wear

#### INTRODUCTION

Erosive tooth wear (ETW) is a multifactorial condition that has received increasing attention in recent decades <sup>1</sup> and affects different age groups <sup>2</sup>. ETW develops as a consequence of excessive exposure of dental surfaces to intrinsic or extrinsic acids that are not from bacteria origin. Intrinsic ETW can be associated to anorexia nervosa, bulimia nervosa, and conditions with frequent regurgitation of gastric acids, while extrinsic ETW relates mainly to specific diets <sup>2,3</sup>, environmental conditions, medications and changes in lifestyle and nutritional habits. The exposure to acids causes the enamel surfaces to soften and become more susceptible to abrasive wear, leading to progressive loss of dental hard tissue <sup>4</sup>. Previously published systematic reviews <sup>5,6</sup> have reported higher levels of ETW and the predicted percentage of adults presenting with severe tooth wear increased from 3% at the age of 20 years to 17% at the age of 70 years. Increasing levels of tooth wear were significantly associated with age<sup>1</sup>.

It is known that excessive exposure to fluoride during the enamel formation period can lead to enamel fluorosis. Studies have shown that enamel with fluorosis are hypomineralized and exhibit higher fluoride content<sup>7–9</sup>. Fluorotic enamel is more porous, which lowers its resistance to mechanical wear; but also rich in fluoride, which could potentially increase its resistance to demineralization <sup>10</sup>. Fluoride compounds can reduce tooth dissolution and, in some cases, increase tooth resistance to erosive acids <sup>11</sup>. Although some in vitro studies have been conducted to test whether higher fluoride content in enamel would protect it from demineralization due to caries simulation, there are no studies reporting if fluorotic enamel would present different susceptibility against dental erosion-abrasion.

This in vitro study tested the hypothesis that despite its fluoride content, fluorotic enamel of different severities is more susceptible to the development of dental erosion-abrasion lesions, when compared to sound enamel.

#### MATERIALS AND METHODS

## Experimental Design

This was a quantitative, laboratory, transversal and experimental analytical study with direct observation technique <sup>12</sup>. It followed a 3×3×2 factorial design, using an erosion-abrasion simulation model. The experimental factors were a) degree of fluorosis severity, at 3 levels: sound (TF0), moderate (TF1-2), severe (TF3-4); b) abrasive challenge, at 3 levels: low, medium, high; and c) erosive challenge at 2 levels: yes, no. The erosion-abrasion simulation was performed for 10 days. Human enamel specimens were selected, prepared and randomly assigned to each of abrasive-erosive levels stratified by fluorosis severity, generating the 18 groups (n=8) from the three experimental factors. The response variable was natural enamel surface loss, measured in micrometers using profilometry.

## Teeth Selection

A total of 144 unidentified extracted permanent molars human teeth were collected, including 48 sound (control) teeth and 96 teeth with different fluorosis severity levels. They were examined using a stereomicroscope at 2× magnification. Those with the presence of a visual caries lesion, restorations, enamel fissures / cracks, enamel fractures were excluded. The teeth were carefully cleaned using a periodontal curette to remove soft tissue. Enamel fluorosis was visually assessed by the Thylstrup-Fejerskov Index (TFI) by a previously trained and calibrated examiner (CAMS).

## Specimen Preparation

Enamel blocks (4×4×2 mm) were cut using a microtome (Isomet Low Speed Saw, Buehler). The specimens were embedded in acrylic resin (VariDur® Power and Liquid, High Performance Mounting System, manufactured by Buehler) to facilitate handling and positioning in the automatic brush machine for the study. A central area (2×4 mm) on the enamel surface of the specimens, was exposed to the experimental treatments. The sides of this area were partially protected with nail polish (Avon True Color Pro + Nail Enamel). After the specimens were prepared, they were assigned to the experimental groups using balanced randomization according to TFI scores.

# Erosion-Abrasion and Abrasion Cycling

Specimens in groups assigned to the erosion-abrasion cycling model were fully immersed in a 1% citric acid solution (pH ~2.4) for 5 min, without agitation. Then, the specimens were immersed in artificial saliva for 60 min, under gentle agitation, and at room temperature <sup>13</sup>. The specimens were positioned in an automated custom-made toothbrushing machine <sup>13,14</sup> and brushed with the respective abrasive slurries for 15 s (45 back-and-forth movements) using medium stiffness toothbrushes (Soft Oral-B 40, Procter & Gamble, Cincinnati, Ohio, USA) and a load of 150 g. After brushing, the specimens were rinsed with deionized water for 10s and were stored in artificial saliva in a 150 rpm agitation during the night period<sup>13</sup> (Figure 1).

The slurries were prepared by mixing different abrasives: higher (Zeodent 103/15%; RDA [standard-deviation]: 208.0 [9.96]), medium (Zeodent 124/10%; RDA: 146.9 [9.96]) and lower (Zeodent 113/5%; RDA: 69.2 [9.96]; Zeodent, J.M. Huber, Etowah, TN, USA) with 0.5% carboxymethycellulose solution.<sup>15</sup>

# Profilometric Analysis

The depth of simulated lesions was analyzed by optical profilometry (Proscan 2000 profilometer, Scantron Industrial Products Ltd, Taunton Somerset TA2 8DE, England), before and after simulations. Scannings were performed using the S65/10 (10 mm) sensor, with X = 0.03, 180 steps; Y = 0.03, 180 steps and analyzed using dedicated software (Proscan 2000 software, V2.1.1.10, Scantron).

## Statistical Analysis

Three-way ANOVA was used to evaluate the effects of fluorosis level (TF0, TF 1-2, TF 3-4), erosion simulation (acid, water), and abrasion level (low, medium, high) on height loss. Due to non-normality and heterogeneous variances, analyses used the ranks of the data to satisfy ANOVA assumptions. A two-sided 5% ( $\alpha$ =5%) significance level was used for all tests. Analyses were performed using SAS version 9.4 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

## **RESULTS**

The three-way and two-way interactions among the factors were not significant (p>0.20, Table 1). Enamel fluorosis level (p=0.638) and abrasion level (p=0.390) had no significant effect on height loss. Acid exposure had significantly more height loss than water (p<0.001) (Table 2).

#### DISCUSSION

This in vitro study tested the hypothesis that fluorotic enamel with different degrees of severity is more susceptible to the development of dental erosion-abrasion wear compared to healthy enamel, the findings showed that under our experimental conditions, fluorosis, regardless of severity level, does not impact enamel susceptibility to dental erosive and abrasive challenges. This result is somewhat surprising, since it has been reported that the intrinsic structure of fluorotic enamel presents a higher level of porosity, when compared to sound enamel <sup>16–18</sup>. In theory. these structural differences should render enamel more susceptible to not only demineralization but also toothbrushing abrasion, as simulated in this study. A previous laboratory study has observed an increase in the susceptibility of fluorotic enamel to caries-like lesions <sup>19</sup>, partially supporting the proposed theory. In that investigation, enamel with higher severity level of fluorosis (TF 3-4) was less resistant to demineralization than sound enamel (TF0), even though the fluoride concentration found in fluorotic enamel was significantly higher than that found in sound enamel. The authors attributed the higher porosity of the enamel in TF 3-4 teeth as the reason for the increased demineralization, since the diffusion of the acid into the enamel could be facilitated and the higher porosity results in a larger mineral area to be dissolved by the acids 19.

The contrast between the findings of the present study and those of the study of Marín et al. (2016) can be explained by differences in the experimental methods and underlying mechanisms (caries versus dental erosion). In the previous study, a relatively milder acid (acetic acid, pH 4.3) was used. We suggested that this less aggressive model allowed the differences between sound and fluorotic enamel to be clearly highlighted. On the other hand, the present study considered a relatively

more severe erosive challenge simulation with the use of citric acid (pH 2.4), which may have been overly aggressive and not allowed the potential differences between sound and fluorotic enamel loss to be detected. Citric acid was chosen as it is commonly found in fruit juice drinks and most carbonated beverages and is generally accepted as the standard acid in several models for the simulation of dental erosion <sup>13,20,21</sup>. While caries lesion formation involves a slow diffusion of dissolved minerals that combine with a liquid phase partially saturated with regard to tooth mineral, frequently creating conditions for remineralization in response to demineralization events <sup>22</sup>, the transport of ions dissolved by demineralization is much faster in dental erosion <sup>23</sup>, so that mineral loss involves more intensively the enamel subsurface in caries and is more concentrated at the enamel surface in erosion. It has been shown that the higher contrast in fluoride content between normal and fluorotic enamel is found at the enamel subsurface 9, which would favor a higher impact of fluorosis on caries (subsurface phenomenon) than in dental erosion (surface phenomenon). This is consistent with the findings of the current study.

The different abrasive level of toothpastes simulated in this study had no impact on the enamel erosion-abrasion lesions development, although some non-significant trends were observed for the higher abrasive toothpaste to cause more enamel loss in both sound and mild fluorotic enamel substrates. Nevertheless, the lack of clear impact of the toothpaste abrasivity was not expected, based on previous reports in this area, using dental erosion-abrasion simulation models <sup>14</sup>. Similarly, to what was suggested for the impact of the acid challenge on fluorotic enamel, the abrasive challenge may have been overshadowed by the dental erosive challenge not allowing differences on the influence of the tested toothpastes to be found. When dental erosion was not simulated, much lower values of enamel loss were observed with no clear indication of the impact of the toothpaste abrasivity on the results, regardless of the presence of fluorosis. Considering the relatively high variation observed in the measurements, it is likely that these findings may be related to some of the limitations of the simulation model, specifically with the use of natural surfaces for the test simulation. The vast majority of laboratorial studies in the dental abrasion and erosion area use flattened and polished dental surfaces, in order to minimize the error caused by biological variation among specimens and to maximize the capability of the evaluation methods to identify differences between the experimental factors. This experimental approach was not possible in this study, as we aimed to study the natural fluorotic surfaces, which did not allow for any processing of the enamel surfaces.

When interpreting the relevance of the findings of this study, it is also important to consider the myriad of clinical factors that may directly or indirectly affect the dental abrasive clinical wear caused by the toothbrushing procedure associated to a toothpaste. Modulating factors such as behavior (toothbrushing frequency, pressure, length, type of toothpaste, type of toothbrush), chemical (fluoride, detergents, acid) and biological (dental substrate, saliva, and dental biofilm), as well as any interaction among them should be considered <sup>24</sup>. Therefore, there is a need for further studies controlling these factors in an isolated and interacting manner. Future studies in this area should also focus on reducing the experimental error, with improvement of the experimental simulation and evaluation of dental erosion-abrasion on natural enamel surfaces. Additionally, the use of a larger sample size could increase the robustness of similar types of studies.

## **CONCLUSION**

Within the limitations of this in vitro study, fluorotic enamel of different severities does not show different susceptibility to dental erosion-abrasion. Further investigations are warranted, focusing on the improvement of experimental conditions and evaluation methods that could minimize the experimental errors observed.

# STATEMENT OF ETHICS

This study was reviewed and approved by the Research Ethics Committee (Federal University of Paraíba - Brazil, CAAE: 23704619.2.0000.5188), and by the Institutional Review Board of the Indiana University Purdue University of Indianapolis (process # NSO 911-07).

# **ACKNOWLEDGEMENTS**

This research was part of the requirements for Dr. Cristiane Araújo Maia Silva to obtain the PhD degree in Dental Sciences, Federal University of Paraíba, Brazil.

#### REFERENCES

- 1. Schlueter, N. & Luka, B. Erosive tooth wear a review on global prevalence and on its prevalence in risk groups. *Br Dent J* **224**, 364–370 (2018).
- 2. Jaeggi, T. & Lussi, A. Prevalence, Incidence and Distribution of Erosion. in 55–73 (2014). doi:10.1159/000360973.
- 3. Lussi, A. & Carvalho, T. S. Erosive Tooth Wear: A Multifactorial Condition of Growing Concern and Increasing Knowledge. in 1–15 (2014). doi:10.1159/000360380.
- 4. Lussi, A., Schlueter, N., Rakhmatullina, E. & Ganss, C. Dental Erosion An Overview with Emphasis on Chemical and Histopathological Aspects. *Caries Res* **45**, 2–12 (2011).
- 5. Van't Spijker, A. *et al.* Prevalence of tooth wear in adults. *Int J Prosthodont* **22**, 35–42 (2009).
- 6. Kreulen, C. M. *et al.* Systematic Review of the Prevalence of Tooth Wear in Children and Adolescents. *Caries Res* **44**, 151–159 (2010).
- 7. Vieira, A. P. G. F., Hanocock, R., Eggertsson, H., Everett, E. T. & Grynpas, M. D. Tooth Quality in Dental Fluorosis. *Calcif Tissue Int* **76**, 17–25 (2005).
- 8. den Besten, P. K. Dental Fluorosis: Its Use as a Biomarker. *Adv Dent Res* **8**, 105–110 (1994).
- 9. Martinez-Mier, E. A. *et al.* Relationship between enamel fluorosis severity and fluoride content. *J Dent* **46**, 42–46 (2016).
- 10. Fejerskov, O., Larsen, M. J., Richards, A. & Baelum, V. Dental Tissue Effects of Fluoride. *Adv Dent Res* **8**, 15–31 (1994).
- 11. Bezerra, S. J. C. *et al.* Anti-Erosive Effect of Solutions Containing Sodium Fluoride, Stannous Chloride, and Selected Film-Forming Polymers. *Caries Res* **53**, 305–313 (2019).
- 12. Thiese, M. S. Observational and interventional study design types; an overview. *Biochem Med (Zagreb)* **24**, 199–210 (2014).
- 13. Scaramucci, T., Borges, A. B., Lippert, F., Frank, N. E. & Hara, A. T. Sodium fluoride effect on erosion–abrasion under hyposalivatory simulating conditions. *Arch Oral Biol* **58**, 1457–1463 (2013).
- 14. Hara, A. T. *et al.* Interplay between fluoride and abrasivity of dentifrices on dental erosion–abrasion. *J Dent* **37**, 781–785 (2009).
- 15. M. Nassar, H. & A. Platt, J. Effect of brushing with two different abrasives on fluoride release by high-viscosity glass ionomer cement. *J Oral Sci* **57**, 379–384 (2015).
- 16. Neurath, C. *et al.* Dental Fluorosis Trends in US Oral Health Surveys: 1986 to 2012. *JDR Clin Trans Res* **4**, 298–308 (2019).
- 17. Almeida, L. F., Marín, L. M., Martínez-Mier, E. A. & Cury, J. A. Fluoride Dentifrice Overcomes the Lower Resistance of Fluorotic Enamel to Demineralization. *Caries Res* **53**, 567–575 (2019).
- 18. Iida, H. & Kumar, J. v. The Association Between Enamel Fluorosis and Dental Caries in U.S. Schoolchildren. *The Journal of the American Dental Association* **140**, 855–862 (2009).
- 19. Marín, L. M., Cury, J. A., Tenuta, L. M. A., Castellanos, J. E. & Martignon, S. Higher Fluorosis Severity Makes Enamel Less Resistant to Demineralization. *Caries Res* **50**, 407–413 (2016).

- 20. Tahmassebi, J. F., Duggal, M. S., Malik-Kotru, G. & Curzon, M. E. J. Soft drinks and dental health: A review of the current literature. *J Dent* **34**, 2–11 (2006).
- 21. Habashi, W. *et al.* Three-Dimensional Surface Texture Analysis of Fluoride's Effect on Enamel Erosion. *J Clin Med* **10**, 4528 (2021).
- 22. Anderson, P. & Elliott, J. C. Subsurface Demineralization in Dental Enamel and Other Permeable Solids During Acid Dissolution. *J Dent Res* **71**, 1473–1481 (1992).
- 23. The Disease: 3 Histological and Clinical Appearance of Caries. in *Caries Management-Science and Clinical Practice* (eds. Meyer-Lueckel, H., Paris, S., Effenberger, S. & Ekstrand, K. R.) (Georg Thieme Verlag, 2013). doi:10.1055/b-0034-84406.
- 24. González-Cabezas, C., Hara, A. T., Hefferren, J. & Lippert, F. Abrasivity Testing of Dentifrices Challenges and Current State of the Art. in 100–107 (2013). doi:10.1159/000350476.

# FIGURE & TABLES

Figure 1. Daily sequence of erosion cycling and erosion-abrasion

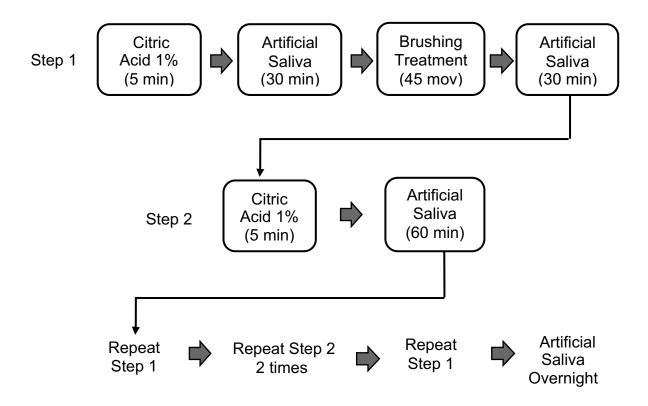


Table 1. ANOVA Table - Results of the analysis of variance for the study factors and their interactions.

Effect	Num DF	Den DF	F-Value	p-value
Fluorosis level	2	124	0.45	0.638
Erosion	1	124	358.94	<.001
Fluorosis level * Erosion	2	124	1.54	0.219
Abrasion	2	124	0.95	0.390
Fluorosis level * Abrasion	4	124	0.68	0.607
Erosion *Abrasion	2	124	0.79	0.455
Fluorosis level * Erosion * Abrasion	4	124	0.40	0.811

Table 2. Descriptive statistics of experimental groups.

							95	% CI for	Median	Q1	Q3	IQR		
Fluorosis	<b>Erosion</b>	<b>Abrasion</b>	Ν	Mean	SD	SE		Mean					Min	Max
Sound	Acid	High	8	92.1	22.0	7.8	73.7	110.4	99.1	83.2	106.0	22.8	45.1	114.8
		Medium	8	86.7	14.5	5.1	74.5	98.9	93.9	75.7	97.5	21.8	60.9	98.5
		Low	8	85.9	14.2	5.0	74.0	97.9	87.5	79.0	97.7	18.7	58.0	101.2
	Water	High	8	12.3	4.9	1.7	8.2	16.4	11.4	8.4	15.4	7.0	7.6	20.6
		Medium	8	13.2	6.4	2.3	7.8	18.5	11.4	8.2	18.0	9.8	6.0	24.0
		Low	8	15.0	13.3	4.7	3.8	26.1	11.5	8.8	13.4	4.6	5.1	47.1
TF 1-2	Acid	High	8	97.3	22.6	8.0	78.4	116.2	103.1	94.0	109.0	15.0	46.0	120.0
		Medium	8	93.0	12.8	4.8	81.2	104.8	94.4	85.2	105.3	20.1	70.8	106.2
		Low	7	77.3	23.1	8.2	58.0	96.6	75.9	57.4	99.6	42.1	47.7	105.0
	Water	High	8	11.4	6.5	2.3	6.0	16.8	9.5	6.9	14.6	7.7	4.8	24.2
		Medium	8	15.0	5.1	1.8	10.7	19.3	14.7	11.6	19.6	8.0	6.8	21.6
		Low	8	10.7	4.9	1.7	6.6	14.7	10.7	7.9	12.2	4.3	3.4	20.2
TF 3-4	Acid	High	8	90.5	21.2	7.5	72.8	108.3	84.9	72.4	107.1	34.7	69.5	126.0
		Medium	8	86.6	41.9	15.8	47.8	125.3	82.4	51.3	120.6	69.3	32.1	156.5
		Low	7	93.0	37.8	13.4	61.4	124.6	94.3	78.2	98.2	20.1	33.1	169.2
	Water	High	8	17.4	7.5	2.7	11.1	23.7	19.4	13.1	21.4	8.2	4.2	27.3
		Medium	8	18.0	12.0	4.2	7.9	28.0	13.3	10.1	24.0	13.9	6.8	42.3
		Low	8	21.8	29.6	10.5	-2.9	46.5	12.5	8.5	18.4	9.9	2.5	93.4

# 5. DISCUSSÃO

Este estudo in vitro testou a hipótese de que o esmalte fluorótico com diferentes graus de severidade seria mais susceptível ao desenvolvimento de desgaste de erosão-abrasão dentária, quando comparado ao esmalte sadio, os resultados mostraram que, diante das condições experimentais empregadas, a fluorose, independentemente do nível de severidade, não afeta a susceptibilidade do esmalte aos desafios dentários erosivos e abrasivos. Este resultado é um tanto surpreendente, uma vez que foi relatado que a estrutura intrínseca do esmalte fluorótico apresenta um maior nível de porosidade, quando comparado ao esmalte sadio (lida & Kumar, 2009; Almeida et al., 2019; Neurath et al., 2019). Em teoria, essas diferenças estruturais devem tornar o esmalte mais susceptível não apenas à desmineralização, mas também à abrasão pela escovação, como simulado neste estudo. Um estudo laboratorial anterior observou um aumento na susceptibilidade do esmalte fluorótico a lesões semelhantes à cárie (Marín et al., 2016), corroborando parcialmente a teoria proposta. Nessa investigação, o esmalte com maior grau de severidade de fluorose (TF3-4) foi menos resistente à desmineralização do que o esmalte sadio (TF0), embora a concentração de flúor encontrada no esmalte fluorótico tenha sido significativamente maior do que a encontrada no esmalte sadio. Os autores atribuíram a maior porosidade do esmalte nos dentes TF 3-4 como o motivo do aumento da desmineralização, uma vez que a difusão do ácido no esmalte poderia ser facilitada e a maior porosidade resulta em uma maior área mineral a ser dissolvida pelos ácidos (Marín et al., 2016).

O contraste entre os achados do presente estudo e os do estudo de Marín et al. (2016) pode ser explicado por diferenças nos métodos experimentais e nos mecanismos subjacentes (cárie x erosão). No estudo anterior, foi utilizado um ácido relativamente mais fraco (ácido acético, pH 4,3). Sugerimos que este modelo menos agressivo permitisse que as diferenças entre o esmalte sadio e o fluorótico fossem claramente destacadas. Por outro lado, o presente estudo considerou uma simulação de desafio erosivo relativamente mais forte com o uso de ácido cítrico (pH 2,4), que pode ter sido excessivamente agressivo e não ter permitido que as diferenças potenciais entre perda de esmalte hígido e fluorótico fossem detectadas.

O ácido cítrico foi escolhido por ser comumente encontrado em sucos de frutas e na maioria das bebidas carbonatadas e é geralmente aceito como ácido padrão em vários modelos para simulação de erosão dentária (Tahmassebi et al., 2006, Scaramucci et al., 2013; Habashi et al., 2021).

Enquanto a formação de lesões de cárie envolve uma lenta difusão de minerais dissolvidos que se combinam com uma fase líquida parcialmente saturada em relação ao mineral do dente, frequentemente criando condições para remineralização em resposta a eventos de desmineralização (Anderson & Elliott, 1992), o transporte de íons dissolvidos pela desmineralização é muito mais rápido na erosão (Meyer-Lueckel et al., 2013).

A perda mineral então, envolve mais intensamente a subsuperfície do esmalte na cárie e é mais concentrada na superfície do esmalte na erosão. Foi demonstrado que o maior contraste no teor de flúor entre esmalte normal e fluorótico é encontrado na subsuperfície do esmalte (Martinez-Mier et al., 2016), o que favoreceria um maior impacto da fluorose na cárie (fenômeno subsuperficial) do que na erosão (fenômeno de superfície). Isso está de acordo com os achados do presente estudo.

Os diferentes níveis abrasivos das pastas dentárias simulados neste estudo não tiveram impacto no desenvolvimento das lesões de erosão-abrasão do esmalte, embora algumas tendências não significativas tenham sido observadas para a suspensão com abrasividade mais alta causar mais perda de esmalte para substratos de esmalte sadio e com fluorose moderada. No entanto, a falta de impacto claro da abrasividade da pasta dentária não era esperada, com base em relatórios anteriores nesta área, usando modelos de simulação de erosão-abrasão dentária (Hara et al., 2009). À semelhança do que foi sugerido para o impacto do desafio ácido no esmalte fluorótico, o desafio abrasivo pode ter sido ofuscado pela simulação da erosão dentária, não permitindo encontrar diferenças na influência das pastas dentárias testadas. Quando o DDE não foi simulado, foram observados valores muito menores de perda de esmalte, sem indicação clara do impacto da abrasividade das pastas dentárias nos resultados, independentemente da presença de fluorose. Considerando a variação relativamente alta observada nas medições, é provável que esses achados possam estar relacionados a algumas das limitações do modelo de simulação, especificamente com o uso de superfícies naturais curvas para a simulação de teste. A grande maioria dos estudos laboratoriais na área de abrasão e erosão dentária utiliza superfícies dentárias planificadas e polidas, a fim de eliminar o erro causado pela variação biológica entre os espécimes e maximizar a capacidade dos métodos de avaliação em identificar diferenças entre os fatores experimentais. Essa abordagem experimental não foi possível neste estudo, pois nosso objetivo era estudar as superfícies fluoróticas naturais, que não permitiam nenhum processamento das superfícies de esmalte.

Também é importante considerar a miríade de fatores clínicos que podem afetar direta ou indiretamente o DDE causado pelo procedimento de escovação com pasta dentária. Fatores comportamentais (frequência de escovação, pressão, comprimento), químicos (fluoreto, detergentes, ácidos), mecânicos (abrasivos, escova de dentes) e biológicos (substrato dentário, saliva e biofilme dentário), bem como qualquer interação entre eles (González-Cabezas et al., 2013) devem ser considerados, portanto, há necessidade de mais estudos controlando esses fatores de forma isolada e interativa. Futuros estudos nesta área devem focar na redução do erro experimental, com aprimoramento da simulação experimental e avaliação da erosão-abrasão dentária em superfícies de esmalte natural. Alternativamente, o uso de um tamanho de amostra maior poderia aumentar a robustez de tipos semelhantes de estudos.

# 6. CONCLUSÃO

Considerando as limitações deste estudo laboratorial, o esmalte fluorótico de diferentes graus de severidade não apresentou susceptibilidade diferente à erosão-abrasão dentária, independente do nível de abrasividade da escovação dentária. Outras investigações são necessárias, com foco na melhoria das condições experimentais e métodos de avaliação que possam minimizar os erros experimentais observados.

# **REFERÊNCIAS**

Almeida, L. F., Marín, L. M., Martínez-Mier, E. A., & Cury, J. A. (2019). Fluoride Dentifrice Overcomes the Lower Resistance of Fluorotic Enamel to Demineralization. Caries Research, 53(5), 567–575. https://doi.org/10.1159/000499668

Amaechi BT, Higham SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. J Dent. 2005;33(3):243-52.

Anderson, P., & Elliott, J. C. (1992). Subsurface Demineralization in Dental Enamel and Other Permeable Solids During Acid Dissolution. Journal of Dental Research, 71(8), 1473–1481. https://doi.org/10.1177/00220345920710080301

Aoba, T.; Fejerskov, O. Dental fluorosis: chemistry and biology. Critical Reviews in Oral Biology and Medicine. v. 13, p. 155-70, 2002.

Bartlett D, Harding M, Sherriff M, Shirodaria S, Whelton H (2011) A new index to measure tooth wear–methodolgy and practical advice. Community Dent Health 28:182–187. https://doi.org/10.1922/CDH 2552Bartlett06

Bartlett DW, Smith BG, Wilson RF. Comparison of the effect of fluoride and non-fluoride toothpaste on tooth wear in vitro and the influence of enamel fluoride concentration and hardness of enamel. Br Dent J. 1994;176(9):346-8.

Bertassoni LE, Martin JM, Torno V, Vieira S, Rached RN, Mazur RF. In-office dental bleaching and enamel microabrasion for fluorosis treatment. J Clin Pediatr Dent. 2008 Spring;32(3):185-7. doi: 10.17796/jcpd.32.3.20757r27312334u8. PMID: 18524266.

Bezerra, S. J. C., João-Souza, S. H., Aoki, I. V., Borges, A. B., Hara, A. T., & Scaramucci, T. (2019). Anti-Erosive Effect of Solutions Containing Sodium Fluoride, Stannous Chloride, and Selected Film-Forming Polymers. Caries Research, 53(3), 305–313. https://doi.org/10.1159/000493388

Bharath KP, Subba Reddy VV, Poornima P, Revathy V, Kambalimath HV, Karthik B. Comparison of relative efficacy of two techniques of enamel stain removal on fluorosed teeth. An in vivo study. J Clin Pediatr Dent. 2014 Spring;38(3):207-13. doi: 10.17796/jcpd.38.3.0h120nkl8852p568. PMID: 25095314.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. SB Brasil 2010: Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: resultados principais / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 116 p.: Il

Bronckers AL, Lyaruu DM, denBesten PK. The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis. J Dent Res. 2009 Oct;88(10):877-93. doi: 10.1177/0022034509343280. PMID: 19783795; PMCID: PMC3318083.

Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT (2012) Saliva and dental erosion. J Appl Oral Sci 20(5):493–502. https://doi.org/10.1590/ S1678-77572012000500001

Buzalaf MA, Magalhães AC, Wiegand A.Alternatives to fluoride in the prevention and treatment of dental erosion. Monogr Oral Sci. 2014;25:244-52.

Buzalaf MAR, Magalhães AC, Rios D (2018) Prevention of erosive tooth wear: targeting nutritional and patient-related risks factors. Br Dent J 224:371–378. https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.173

Carvalho TS, Colon P, Ganss C, Huysmans MC, Lussi A, Schlueter N, Schmalz G, Shellis RP, Tveit AB, Wiegand A (2015) Consensus report of the European Federation of Conservative Dentistry: erosive tooth wear–diagnosis and management. Clin Oral Investig 19:1557–1561. https://doi.org/10.1007/s00784-015-1511-7

Celik EU, Yildiz G, Yazkan B. clinical evaluation of enamel microabrasion for the aesthetic management of mild-to-severe dental fluorosis. J Esthet Restor Dent.

2013 Dec;25(6):422-30. doi: 10.1111/jerd.12052. Epub 2013 Sep 5. PMID: 24320061.

d'Incau E, Couture C, Maureille B. Human tooth wear in the past and the present: tribological mechanisms, scoring systems, dental and skeletal compensations. Arch Oral Biol. 2012;57(3):214-229.

denBesten P, Li W. Chronic fluoride toxicity: dental fluorosis. Monogr Oral Sci. 2011; 22:81-96. doi: 10.1159/000327028. Epub 2011 Jun 23. PMID: 21701193; PMCID: PMC3433161.

Di Giovanni T, Eliades T, Papageorgiou SN. Interventions for dental fluorosis: A systematic review. J Esthet Restor Dent. 2018 Nov;30(6):502-508. doi: 10.1111/jerd.12408. Epub 2018 Sep 8. PMID: 30194793.

Donovan T, Nguyen-Ngoc C, Abd Alraheam I, Irusa K. Contemporary diagnosis and management of dental erosion. J Esthet Restor Dent. 2021; 33:78–87. https://doi.org/10.1111/jerd.12706

Duckworth RM. The science behind caries prevention. Int Dent J. 1993;43(6 Suppl 1):529-39.

Fejerskov, O., Larsen, M. J., Richards, A., & Baelum, V. (1994). Dental Tissue Effects of Fluoride. Advances in Dental Research, 8(1), 15–31. https://doi.org/10.1177/08959374940080010601

Fejerskov, O.; Johnson, N.W.; Silverstone, L.M. The ultrastructure of fluorosed human dental enamel. Scand J Dent Res. v. 82, p. 357-372, 1974.

Fejerskov, O.; Silverstone, L.M.; Melsen, B.; Moller, I.J. Histological features of fluorosed human dental enamel. Caries Research. v. 9, p. 190–210, 1975.

Fejerskov, O.; Thylstrup, A.; Larsen, M.J. Clinical and structural features and

possible pathogenic mechanisms of dental fluorosis. Scand J Dent Res. v. 85, p. 510–534, 1977.

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

Ganss C, Lussi A (2014) Diagnosis of erosive tooth wear. Monogr Oral Sci 25:22–31. https://doi.org/10.1159/000359935

Ganss C, Lussi A, Schlueter N (2014) The histological features and physical properties of eroded dental hard tissues. Monogr Oral Sci 25:99–107. https://doi.org/10.1159/000359939

Ganss C, Lussi A, Sommer N, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of fluoride compounds and stannous chloride as erosion inhibitors in dentine. Caries Res. 2010;44(3):248-52.

Ganss C, Schlueter N, Hardt M, Schattenberg P, Klimek J. Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro: a comparison of amine, sodium and stannousfluoride. Caries Res. 2008;42(1):2-7.

Gkantidis N, Dritsas K, Gebistorf M, Halazonetis D, Ren Y, Katsaros C. Longitudinal 3D Study of Anterior Tooth Wear from Adolescence to Adulthood in Modern Humans. Biology (Basel). 2021 Jul 13;10(7):660. doi: 10.3390/biology10070660. PMID: 34356515; PMCID: PMC8301389.

Goldfarb MB, Hara AT, Hirsh AT, Carvalho JC, Maupomé G. Are dental patients able to perceive erosive tooth wear on anterior teeth? An internet-based survey assessing awareness and related action. J Am Dent Assoc. 2020 Jan;151(1):10-15. doi: 10.1016/j.adaj.2019.07.036. Epub 2019 Nov 26. PMID: 31784028.

González-Cabezas, C., Hara, A. T., Hefferren, J., & Lippert, F. (2013). Abrasivity

Testing of Dentifrices - Challenges and Current State of the Art (pp. 100–107). https://doi.org/10.1159/000350476

Guijian L, Liugen Z, Duzgoren-Aydin NS, Lianfen G, Junhua L, Zicheng P. Health effects of arsenic, fluorine, and selenium from indoor burning of Chinese coal. Rev Environ Contam Toxicol. 2007; 189:89-106. doi: 10.1007/978-0-387-35368-5\_4. PMID: 17193737.

Habashi, W., Bader-Farraj, A., Shpack, N., Beitlitum, I., May, H., & Sarig, R. (2021). Three-Dimensional Surface Texture Analysis of Fluoride's Effect on Enamel Erosion. *Journal of Clinical Medicine*, *10*(19), 4528. https://doi.org/10.3390/jcm10194528

Hara AT, Barlow AP, Eckert GJ, Zero DT (2014) Novel in-situ longitudinal model for the study of dentifrices on dental erosion-abrasion. Eur J Oral Sci 122:161–167. https://doi.org/10.1111/eos.12108

Hara AT, Turssi CP. Baking soda as an abrasive in toothpastes: Mechanism of action and safety and effectiveness considerations. J Am Dent Assoc. 2017 Nov;148(11S): S27-S33. doi: 10.1016/j.adaj.2017.09.007. PMID: 29056187.

Hara, A. T., González-Cabezas, C., Creeth, J., Parmar, M., Eckert, G. J., & Zero, D. T. (2009). Interplay between fluoride and abrasivity of dentifrices on dental erosion–abrasion. *Journal of Dentistry*, *37*(10), 781–785. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2009.06.006

Hara, A.T.; Lussi, A.; Zero, D.T. Biological factors. Monogr Oral Sci. v. 20, p. 88-99, 2006.

Huysmans MC, Jager DH, Ruben JL, Unk DE, Klijn CP, Vieira AM. Reduction of Erosive Wear in situ by Stannous Fluoride-Containing Toothpaste. Caries Res. 2011;45(6):518-23.

Huysmans MC, Young A, Ganss C. The role of fluoride in erosion therapy. Monogr Oral Sci. 2014; 25:230-43.

lida, H., & Kumar, J. v. (2009). The Association Between Enamel Fluorosis and Dental Caries in U.S. Schoolchildren. *The Journal of the American Dental Association*, *140*(7), 855–862. https://doi.org/10.14219/jada.archive.2009.0279

Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. Eur J Oral Sci. 1996;104(2):151-5.

Jaeggi, T.; Lussi, A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. Monogr. Oral Sci. v. 25, p. 55–73. Doi:10.1159/000360973. 2014.

Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A (2016) Etiology and pathogenesis of dental erosion. Quintessence Int 47:275–278. https://doi.org/10.3290/j.qi.a35625

Kato MT, Lancia M, Sales-Peres SH, Buzalaf MA. Preventive effect of commercial desensitizing toothpastes on bovine enamel erosion in vitro. Caries Res.2010;44(2):85-9.

Khandelwal V, Nayak UA, Nayak PA, Ninawe N. Aesthetic management of dental fluorosis. BMJ Case Rep. 2013 May 22;2013: bcr2013010029. doi: 10.1136/bcr-2013-010029. PMID: 23704468; PMCID: PMC3670045.

Kreulen, C. M., van 't Spijker, A., Rodriguez, J. M., Bronkhorst, E. M., Creugers, N. H. J., & Bartlett, D. W. (2010). Systematic Review of the Prevalence of Tooth Wear in Children and Adolescents. *Caries Research*, *44*(2), 151–159. https://doi.org/10.1159/000308567

Lagerweij MD, ten Cate JM. Remineralisation of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: An in situ study. Caries Res. 2002;36(4):270-4.

Larsen MJ. Chemical events during tooth dissolution. J Dent Res. 1990;69::575-80.

Larsen MJ. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. Caries Res. 2001;35(3):229-34.

Lippert F. An introduction to toothpaste: its purpose, history and ingredients. Monogr Oral Sci. 2013; 23:1-14.

Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. Caries Res. 2004;38(Suppl 1):34-44.

Lussi, A., & Carvalho, T. S. (2014). Erosive Tooth Wear: A Multifactorial Condition of Growing Concern and Increasing Knowledge (pp. 1–15). https://doi.org/10.1159/000360380

Lussi, A., Schlueter, N., Rakhmatullina, E., & Ganss, C. (2011). Dental Erosion – An Overview with Emphasis on Chemical and Histopathological Aspects. *Caries Research*, *45*(Suppl. 1), 2–12. https://doi.org/10.1159/000325915

Lyaruu DM, Medina JF, Sarvide S, Bervoets TJ, Everts V, denbesten P, Smith CE, Bronckers AL. Barrier formation: potential molecular mechanism of enamel fluorosis. J Dent Res. 2014 Jan;93(1):96-102. doi: 10.1177/0022034513510944. Epub 2013 Oct 29. PMID: 24170372; PMCID: PMC3865793.

Magalhaes A, Rios D, Buzalaf MAR. Influência dos fluoretos na Prevenção de lesõeserosivas. Fluoretos e Saúde bucal. São Paulo: Santos; 2008. p. 523-7.

Magalhães AC, Levy FM, Rizzante FA, Rios D, Buzalaf MA. Effect of NaF and TiF(4)varnish and solution on bovine dentin erosion plus abrasion in vitro. Acta Odontol Scand. 2012;70(2):160-4.

Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in dental

erosion. Monogr Oral Sci. 2011; 22:158-70.

Margaritis V, Alaraudanjoki V, Laitala ML, Anttonen V, Bors A, Szekely M, Alifragki P, Jász M, Berze I, Hermann P, Harding M. Multicenter study to develop and validate a risk assessment tool as part of composite scoring system for erosive tooth wear. Clin Oral Investig. 2021 May;25(5):2745-2756. doi: 10.1007/s00784-020-03589-7. Epub 2020 Sep 22. PMID: 32964309.

Marín, L. M., Cury, J. A., Tenuta, L. M. A., Castellanos, J. E., & Martignon, S. (2016). Higher Fluorosis Severity Makes Enamel Less Resistant to Demineralization. *Caries Research*, *50*(4), 407–413. https://doi.org/10.1159/000447270

Martignon S, López-Macías AM, Bartlett D, Pitts N, Usuga-Vacca M, Gamboa LF, O'Toole S. The use of index teeth vs. full mouth in erosive tooth wear to assess risk factors in the diet: A cross-sectional epidemiological study. J Dent. 2019 Sep; 88:103164. doi: 10.1016/j.jdent.2019.07.002. Epub 2019 Jul 2. PMID: 31276748.

Martinez-Mier, E. A., Shone, D. B., Buckley, C. M., Ando, M., Lippert, F., & Soto-Rojas, A. E. (2016). Relationship between enamel fluorosis severity and fluoride content. Journal of Dentistry, 46, 42–46. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.01.007

Martinez-Mier, E.A; Lippert, F. Teeth with mild and moderate enamel fluorosis demonstrate increased caries susceptibility in vitro. J Evid Base Dent Pract. p. 1-3, 2017.

Meyer-Lueckel, H., Paris, S., Effenberger, S., & Ekstrand, K. R. (Eds.). (2013). The Disease: 3 Histological and Clinical Appearance of Caries. In *Caries Management-Science and Clinical Practice*. Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/b-0034-84406

Moss SJ. Dental erosion. Int Dent J. 1998;48(6):529-39.

Neurath, C., Limeback, H., Osmunson, B., Connett, M., Kanter, V., & Wells, C. R. (2019). Dental Fluorosis Trends in US Oral Health Surveys: 1986 to 2012. *JDR Clinical & Translational Research*, *4*(4), 298–308. https://doi.org/10.1177/2380084419830957

Newbrun E. The use of sodium bicarbonate in oral hygiene products and practice. Compend Contin Educ Dent. 1996;17(19):S2-S7.

Ng F, Manton DJ. Aesthetic management of severely fluorosed incisors in an adolescent female. Aust Dent J. 2007 Sep;52(3):243-8. doi: 10.1111/j.1834-7819. 2007.tb00495. x. PMID: 17969294.

Racki DNO, Dalla Nora Â, Comim LD, Zenkner JEDA, Alves LS (2020) Erosive tooth wear among South Brazilian adolescents, and its association with sociodemographic variables. Braz Oral Res 33:e119. https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0119

Ranjitkar S, Turan A, Mann C, Gully GA, Marsman M, Edwards S, Kaidonis JA, Hall C, Lekkas D, Wetselaar P, Brook AH, Lobbezoo F, Townsend GC. Surface-Sensitive Microwear Texture Analysis of Attrition and Erosion. J Dent Res. 2017 Mar;96(3):300-307. doi: 10.1177/0022034516680585. Epub 2016 Dec 7. PMID: 27927887.

Revelo-Mejía IA, Hardisson A, Rubio C, Gutiérrez ÁJ, Paz S. Dental Fluorosis: the Risk of Misdiagnosis-a Review. Biol Trace Elem Res. 2021 May;199(5):1762-1770. doi: 10.1007/s12011-020-02296-4. Epub 2020 Jul 23. PMID: 32705431.

Robinson C, Connell S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC, Smith AM. The effect of fluoride on the developing tooth. Caries Res. 2004 May-Jun;38(3):268-76. doi: 10.1159/000077766. PMID: 15153700.

Sabrah, A.H.; Turssi, C.P.; Lippert, F., Eckert G.J.; Kelly A.B.; Hara, A.T. 3D-

Image analysis of the impact of toothpaste abrasivity on the progression of simulated non-carious cervical lesions. Journal of Dentistry. v. 73, p. 14–18, 2018.

Salas MM, Nascimento GG, Huysmans MC, Demarco FF. Estimated prevalence oferosive tooth wear in permanent teeth of children and adolescents: an epidemiological systematic review and meta-regression analysis. J Dent. 2015 Jan;43(1):42-50.

Sato T, Fukuzawa Y, Kawakami S, Suzuki M, Tanaka Y, Terayama H, Sakabe K. The Onset of Dental Erosion Caused by Food and Drinks and the Preventive Effect of Alkaline Ionized Water. Nutrients. 2021 Sep 28;13(10):3440. doi: 10.3390/nu13103440. PMID: 34684439; PMCID: PMC8537624.

Saxegaard E, Rolla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. Scand J Dent Res. 1988;96(6):523-35.

Scaramucci, T., Borges, A. B., Lippert, F., Frank, N. E., & Hara, A. T. (2013). Sodium fluoride effect on erosion–abrasion under hyposalivatory simulating conditions. *Archives of Oral Biology*, *58*(10), 1457–1463. https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.06.004

Scaramucci, T.; Borges, A.B.; Lippert, F.; Zero, D.T.; Aoki, I.V.; Hara, A.T. Antierosive properties of solutions containing fluoride and differente film-forming agentes. J Dent. v. 43, n. 4, p. 458-65, 2015.

Scaramucci, T.; João-Souza, S.H.; Lippert, F.; Eckert, G.J.; Aoki, I.V.; Hara, A.T. Influence of Toothbrushing on the Antierosive Effect of Film-Forming Agents. Caries Res. v. 50, n. 2, p. 104-10, 2016.

Schlueter N, Amaechi BT, Bartlett D, Buzalaf M, Carvalho TS, Ganss C, Hara AT, Huysmans M, Lussi A, Moazzez R, Vieira AR, West NX, Wiegand A, Young A, Lippert F (2020) Terminology of erosive tooth wear: Consensus report of a workshop organized by the ORCA and the cariology research group of the IADR.

Caries Res 54:2-6. https://doi.org/10.1159/000503308

Schlueter N, Klimek J, Ganss C.Efficacy of an experimental tin-F-containing solutionin erosive tissue loss in enamel and dentine in situ. Caries Res. 2009;43(6):415-21.

Schlueter, N., & Luka, B. (2018). Erosive tooth wear – a review on global prevalence and on its prevalence in risk groups. British Dental Journal, 224(5), 364–370. https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.167

Schmidt J, Huang B. Awareness and knowledge of dental erosion and its association with beverage consumption: a multidisciplinary survey. BMC Oral Health. 2022 Feb 11;22(1):35. doi: 10.1186/s12903-022-02065-w. PMID: 35148740; PMCID: PMC8832794.

Serra MC, Messias DC, Turssi CP. Control of erosive tooth wear: possibilities and rationale. Braz Oral Res. 2009;23(Suppl 1):49-55.

Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in toothwear. Monogr Oral Sci. 2014;25:32-45.

Shellis RP, Featherstone JD, Lussi A (2014) Understanding the chemistry of dental erosion. Monogr Oral Sci 25:163–179. https://doi.org/10.1159/000359943

Silva NC, Ventura TMO, Oliveira BP, Dos Santos NM, Pelá VT, Buzalaf MAR, Rodrigues JA (2021) Proteomic profile of the acquired enamel pellicle of professional wine tasters with erosive tooth wear. Eur J Oral Sci 129: e12779. https://doi.org/10.1111/eos.12779

Stookey GK. Toothpaste: what's in it? Available at: http://www.deardoctor.com/articles/toothpaste-whats-in-it/. Accessed August 14, 2017.

Tahmassebi, J. F., Duggal, M. S., Malik-Kotru, G., & Curzon, M. E. J. (2006). Soft

drinks and dental health: A review of the current literature. *Journal of Dentistry*, 34(1), 2–11. https://doi.org/10.1016/j.jdent.2004.11.006

Teixeira L, Manso MC, Manarte-Monteiro P (2017) Erosive tooth wear status of institutionalized alcoholic patients under rehabilitation therapy in the north of Portugal. Clin Oral Investig 21:809–819. https://doi.org/10.1007/s00784-016-1823-2

ten Cate JM, Duijsters PP. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. Caries Res. 1983;17(3):193-9.

ten Cate, J.M.; Featherstone, J.D.B. Physicochemical aspects of fluoride-enamel interactions; in Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA (eds): Fluoride in Dentistry, ed 2. Copenhagen, Munksgaard, p 252–272, 1996.

Thiese, M. S. (2014). Observational and interventional study design types; an overview. *Biochemia Medica*, *24*(2), 199–210. https://doi.org/10.11613/BM.2014.022

Turssi, C. P.; Kelly, A. B.; Hara, A. T. Toothbrush bristle configuration and brushing load: Effect on the development of simulated non-carious cervical lesions. Journal of Dentistry. Jul; 86:75-80, 2019.

Van't Spijker, A., Rodriguez, J. M., Kreulen, C. M., Bronkhorst, E. M., Bartlett, D. W., & Creugers, N. H. J. (n.d.). Prevalence of tooth wear in adults. *The International Journal of Prosthodontics*, 22(1), 35–42.

Vieira AM, Ruben JL, Bronkhorst EM, Huysmans MC. In vitro reduction of dental erosion by low-concentration TiF4 solutions. Caries Res. 2011;45(2):142-7.

Wegehaupt F, Gunthart N, Sener B, Attin T. Prevention of erosive/abrasive enamelwear due to orange juice modified with dietary supplements. Oral Dis.2011;17(5):508-14.

Wegehaupt FJ, Schneiders V, Wiegand A, Schmidlin PR, Attin T. Influence of two different fluoride compounds and an in vitro pellicle on the amount of KOH-soluble fluoride and its retention after toothbrushing. Acta Odontol Scand. 2009; 29:1-5.

Wiegand A, Magalhães AC, Attin T Is titanium tetrafluoride (TiF4) effective to preventcarious and erosive lesions? A review of the literature. Oral Health Prev Dent. 2010;8(2):159-64.

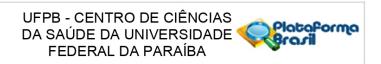
Wiegand A, Meier W, Sutter E, Magalhaes AC, Becker K, Roos M, Attin T. Protective effect of different tetrafluorides on erosion of pellicle-free and pellicle-covered enameland dentine. Caries Res. 2008;42(4):247-54.

Wiegand A, Schlueter N. The role of oral hygiene: does toothbrushing harm? Monogr Oral Sci. 2014; 25:215-219.

Wohlrab T, Flechtenmacher S, Krisam J, Saure D, Wolff D, Frese C (2019) Diagnostic value of the basic erosive wear examination for the assessment of dental erosion on patients, dental photographs, and dental casts. Oper Dent 44:E279–E288. https://doi.org/10.2341/18-127-C

## **ANEXO**

# ANEXO A – Certidão de Aprovação Do Comitê de Ética (UFPB)



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Susceptibilidade do Esmalte Dental Fluorótico ao Desafio Erosivo e Abrasivo

Pesquisador: CRISTIANE ARAÚJO MAIA SILVA

Área Temática: Versão: 2

CAAE: 23704619.2.0000.5188

Instituição Proponente: Centro De Ciências da Saúde Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.715.791

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa de uma aluna de Pós-Graduação em Odontologia da UFPB, cuja finalidade será analisar se alterações no grau de mineralização do esmalte podem influenciar sua susceptibilidade ao processo de erosão e abrasão, utilizando um modelo experimental laboratorial in vitro em 212 dentes extraídos de humanos.

#### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Determinar como o esmalte dental fluorótico se comporta em relação ao desenvolvimento de lesões de erosão/abrasão.

Objetivos Secundários:

A. Investigar o impacto da presença e severidade frente à fluorose do esmalte em sua susceptibilidade à erosão e abrasão.

B. Investigar o efeito protetor de fluoretos à erosão e à abrasão simuladas em esmalte fluorótico de diferentes severidades de fluorose.

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Como se trata de um modelo laboratorial, "in vitro", a pesquisadora relata que não haverá riscos

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900

UF: PB Município: JOAO PESSOA

Página 01 de 03

# UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 3.715.791

diretos, pois não há participantes da pesquisa. Apenas dentes permanentes extraídos serão utilizados através de um banco de dentes da Universidade.

#### Popofícios

Ao finalizar esse projeto, existira uma capacidade de ser criado um protocolo clínico, conhecendo o comportamento de dentes fluoróticos frente a erosão e abrasão.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto relevante e metodologia bem fundamentada, uma vez que a pesquisadora adequou a amostra de acordo com o questionamento do CEP e ajustou todas as documentações necessárias.

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória atendem aos requisitos formais do CEP, uma vez que a pesquisadora atendeu as recomendações do CEP.

#### Recomendações:

Não há recomendações.

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sou de parecer Favorável a execução desse projeto de pesquisa, salvo melhor juízo.

#### Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa. Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

#### Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	12/11/2019		Aceito
do Projeto	ROJETO_1449864.pdf	23:08:59		
Outros	CARTARESPOSTAASPENDENCIASDO	12/11/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
	CEP.docx	23:07:17	MAIA SILVA	
Projeto Detalhado /	Projeto_Cristiane_CEP.docx	12/11/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
Brochura		23:05:05	MAIA SILVA	

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900

UF: PB Município: JOAO PESSOA

Página 02 de 03

# UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE 5 FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 3.715.791

Investigador	Projeto_Cristiane_CEP.docx	12/11/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
		23:05:05	MAIA SILVA	
Outros	CARTAANUENCIABANCODEDENTES.	12/11/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
	pdf	22:50:51	MAIA SILVA	
TCLE / Termos de	TermodeConsentimentoLivreeEsclarecid	12/11/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
Assentimento /	o.pdf	22:48:32	MAIA SILVA	
Justificativa de	·			
Ausência				
Outros	CERTIDAODEHOMOLOGACAODOPR	15/10/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
	OJETODECristiane.pdf	22:39:17	MAIA SILVA	
Outros	CartadeAnuenciaCrisprofAndre.pdf	15/10/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
	·	22:37:09	MAIA SILVA	
Outros	CartaanuenciaCristianepdf.pdf	09/10/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
		12:16:57	MAIA SILVA	
Orçamento	RECURSOS.docx	08/10/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
_		14:02:37	MAIA SILVA	
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	08/10/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
_		14:00:55	MAIA SILVA	
Folha de Rosto	FOLHADEROSTO.pdf	08/10/2019	CRISTIANE ARAÚJO	Aceito
	·	13:55:51	MAIA SILVA	

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

JOAO PESSOA, 20 de Novembro de 2019

Assinado por: Eliane Marques Duarte de Sousa (Coordenador(a))

Endereço: UNIVERSITARIO S/N Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

Página 03 de 03

# IUPUI/CLARIAN INSTITUTIONAL REVIEW BOARD (IRB) REVIEW

# APPLICATION FOR RESEARCH NOT SUBJECT TO FDA OR COMMON RULE DEFINITIONS OF HUMAN SUBJECTS RESEARCH NS6911-07

Section II: Project Type  Refer to the Checklist for Determining Whether an Activity Requires Review by the IUPUl/Clarian IRB for additional information.  Research Involving Data on Decedent PHI. Please indicate that the following criteria are satisfied:  The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and  Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.  Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.  This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, age (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subtiments of dates (except year) for dates direct	Please type only in the gray boxes. To mark a box as c		ct "checked", and click "OK".				
Phone: \( \frac{17-274-8822}{2} \)   E-Mail: \( \frac{dzero@ippui edu}{dzero@ippui edu} \)	SECTIO	N I: PERSONNEL INFORMATION					
Phone: \( \frac{17-274-8822}{2} \)   E-Mail: \( \frac{dzero@ippui edu}{dzero@ippui edu} \)	Principal Investigator: Domenick Zero, DDS	Department: O	ral Health Research Institute				
Contact Information: Name: Suc Kelly, CCRC   Address: OH 106   Phone: 274-3954   Fax: 274-5425   E-Mail: sakelly@inpui.edu   Phone: 274-3954   Fax: 274-5425   E-Mail: sakelly@inpui.edu   Phone: 274-3954   Fax: 274-5425   E-Mail: sakelly@inpui.edu   Phone: 174-3954   Fax: 274-5425   E-Mail: sakelly@inpui.edu   Pax: 274-							
Phone: 274-3954 Fax: 274-5425 E-Mail: sakelly@iupui.edu Phone:  Brudy Title: Collection of Human Teeth for In Vitro and In Situ Research Studies (03-D-158)  BronsorFunding Agency. Na Grant/Sponsor No.: /  Bronsor Protocol #/Grant #: Period: Period: Period: Wunfunded; Internally Funded irrant Title (if different from project title):  Before to the Checklist for Determining Whether an Activity Requires Review by the IUPUI/Clarian IRB for additional formation.  Research Involving Data on Decedent PHI. Please indicate that the following criteria are satisfied:  The use is solely for research on the identifiable health information of decedents.  The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.  Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.  This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/filectors number, vehicle identifiers and serial numbers, title data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, age (inchding age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NoTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:			E-Mail. dzerota/upul.edu				
f this is a Student Protocol, List Name of the Student:			EW T. J. B. Ct. J. J.				
Sudy Title: Collection of Human Teeth for In Vitro and In Situ Research Studies (03-D-158)  sponsor Frunding Agency: _n/a		Fax: 2/4-3423					
Grant/Sponsor Fortice   Horait		and In Situ Decearch Studies (0					
ponsor Protocol #/Grant #: ponsor Type:   Federal   State   Industry   Not-for-Profit   Unfunded;   Internally Funded ponsor Type:   Federal   State   Industry   Not-for-Profit   Unfunded;   Internally Funded ponsor Type:   SECTION II: PROJECT TYPE  Lefer to the Checklist for Determining Whether an Activity Requires Review by the IUPUI/Clarian IRB for additions information.  Research Involving Data on Decedent PHI. Please indicate that the following criteria are satisfied:   The use is solely for research on the identifiable health information of decedents.   The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and   Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.  Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.  This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ag (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.							
SECTION II: PROJECT TYPE							
tefer to the Checklist for Determining Whether an Activity Requires Review by the IUPUl/Clarian IRB for additional formation.    Research Involving Data on Decedent PHI. Please indicate that the following criteria are satisfied:   The use is solely for research on the identifiable health information of decedents.   The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and   Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.   Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.   Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, age (including age 90 and older), and five digit zip code.   Indicate from where the data will be obtained:   The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.   The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.   Other, please explain:   De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2)							
tefer to the Checklist for Determining Whether an Activity Requires Review by the IUPUl/Clarian IRB for additional formation.    Research Involving Data on Decedent PHI. Please indicate that the following criteria are satisfied:   The use is solely for research on the identifiable health information of decedents.   The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and   Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.   Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.   Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, age (including age 90 and older), and five digit zip code.   Indicate from where the data will be obtained:   The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.   The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.   Other, please explain:   De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2)	2 SE	CTION II: PROJECT TYPE					
Research Involving Data on Decedent PHI. Please indicate that the following criteria are satisfied:  The use is solely for research on the identifiable health information of decedents.  The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and  Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.  Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.  This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ag (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of	Refer to the Checklist for Determining Whether		by the IUPUI/Clarian IRB for addition				
The use is solely for research on the identifiable health information of decedents.  The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and  Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.  Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.  This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ag (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department, No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of da	nformation.						
The use is solely for research on the identifiable health information of decedents.  The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and  Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.  Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.  This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ag (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department, No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of da	Research Involving Data on Decedent PHI Bloo	and indicate that the fall and a series					
<ul> <li>□ The PHI sought is necessary for the purposes of the research; and</li> <li>□ Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.</li> <li>□ Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.</li> <li>□ This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ag (including age 90 and older), and five digit zip code.</li> <li>□ Indicate from where the data will be obtained:</li> <li>□ The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.</li> <li>□ The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department No data use agreement is required.</li> <li>□ Other, please explain:</li> <li>□ De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.</li> <li>□ This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits c</li></ul>	Acsessed involving Data on Decedent Phi. Fica	se indicate that the following crite	ma are satisfied:				
<ul> <li>Upon request, the covered entity disclosing the data may require the investigator to provide documentation of the death of the individual(s) about whom information is being sought.</li> <li>Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.</li> <li>This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ag (including age 90 and older), and five digit zip code.</li> <li>Indicate from where the data will be obtained:</li> <li>The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.</li> <li>The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department, No data use agreement is required.</li> <li>Other, please explain:</li> <li>De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.</li> <li>This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly relate</li></ul>	The use is solely for research on the identifiable	e health information of decedents.					
Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.  This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, age (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	The PHI sought is necessary for the purposes of	of the research; and					
Limited Data Set. The research uses or discloses PHI as a limited data set for research purposes.  This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ago (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single all elements of dates (including year) indicative	Upon request, the covered entity disclosing the	data may require the investigator	to provide documentation of the death of th				
This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ago (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department, No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	individual(s) about whom information is being	sought.					
This project type may only be selected if the following is true: Your data set excludes 16 specified identifiers that are listed in the regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ago (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department, No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	Limited Data Set. The research uses or discloses l	PHI as a limited data set for resear	ch purposes.				
regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/licens number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ago (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single							
number, vehicle identifiers and serial numbers, URLs and IP addresses, and full face photos and other comparable images. The limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ag (including age 90 and older), and five digit zip code.  Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	This project type may only be selected if the follow	ing is true: Your data set exclude	s 16 specified identifiers that are listed in th				
<ul> <li>limited data set could include the following identifiable information: admission, discharge, and service dates, date of death, ag (including age 90 and older), and five digit zip code.</li> <li>Indicate from where the data will be obtained:         <ul> <li>The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.</li> <li>The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department, No data use agreement is required.</li> <li>Other, please explain:</li> </ul> </li> <li>De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.</li> <li>This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single.</li> </ul>	regulations, including: name, street address, telephone and fax numbers, e-mail address, social security number, certificate/license						
<ul> <li>Indicate from where the data will be obtained:</li> <li>The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.</li> <li>The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department No data use agreement is required.</li> <li>Other, please explain:</li> <li>De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.</li> <li>This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 an all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single</li> </ul>	limited data set could include the following identit	fiable information; admission, dis-	charge and cervice dates date of death as				
Indicate from where the data will be obtained:  The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	(including age 90 and older), and five digit zip code	t.	enarge, and service dates, date of death, ag				
<ul> <li>□ The data will be provided from a covered entity (e.g. division, department, or practice plan) separate from that of the investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.</li> <li>□ The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department No data use agreement is required.</li> <li>□ Other, please explain:</li> <li>□ De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.</li> <li>This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single.</li> </ul>							
investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department, No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	Indicate from where the data will be obtained:						
investigator. NOTE: A data use agreement must be established between the entity(ies) providing the data and the investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department) No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	The data will be provided from a covered e	ntity (e.g. division department	or practice plan) consents from that of the				
investigator. See the Confidentiality and Privacy SOP for additional information.  The data will be obtained from within the investigator's own covered entity (e.g. his/her own data or that of the department No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	investigator. NOTE: A data use agreement	must be established between t	he entity(jes) providing the data and th				
No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	investigator. See the Confidentiality and Pri	vacy SOP for additional informati	ion.				
No data use agreement is required.  Other, please explain:  De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	The date will be obtained from within the						
De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	No data use agreement is required	stigator's own covered entity (e.g.	his/her own data or that of the department				
De-Identified Health Information. The research involves the use or disclosure of de-identified health information.  This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	and ast agreement is required,						
This project type may only be selected if the following is true: The health information excludes all of the following: (1) Name (2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	Other, please explain:						
(2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographic unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	De-Identified Health Information. The research i	nvolves the use or disclosure of de	e-identified health information.				
(2) All geographic subdivisions smaller than a state, including street address, city, county, precinct, zip codes if the geographi unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death, and all ages over 89 an all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	This project type may only be selected if the follow	wing is true. The health informati	ion excludes all of the following: (1) Normal				
unit of combining all the same three initial digits contains more than 20,000 people; (3) All elements of dates (except year) for dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death, and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	(2) All geographic subdivisions smaller than a stat	e, including street address, city, c	county, precinct, zip codes if the geographic				
dates directly related to an individual, including birth date, admission date, discharge date, date of death; and all ages over 89 and all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	unit of combining all the same three initial digits of	contains more than 20,000 people:	: (3) All elements of dates (except year) for				
all elements of dates (including year) indicative of such age, except that such ages and elements may be aggregated in a single	dates directly related to an individual, including bird	th date, admission date, discharge	date, date of death; and all ages over 89 and				
.0570.05	all elements of dates (including year) indicative of	such age, except that such ages a	and elements may be aggregated in a single				
V05/01/0			v05/01/0				

category of age 90 or older; (4) Telephone numbers; (5) Fax numbers; (6) Electronic mail addresses; (7) Social security numbers; (8) Medical record numbers; (9) Health plan beneficiary numbers; (10) Account numbers; (11) Certificate/license numbers; (12) Vehicle identifiers and serial numbers, including license plate numbers; (13) Device identifiers and serial numbers; (14) Web universal resource locators (URLs); (15) Internet protocol (IP) address numbers; (16) Biometric identifiers, including finger and voice prints; (17) Full face photographic images and any comparable images; and (18) Any other unique identifying number, character, or code.

	oice prints; (17) Full face photographic images and any comparable images; and (18) Any other unique identifying number, haracter, or code.
⊠ (	Coded Private Information or Biological Specimens. The research involves only coded private information or specimens.
	To qualify for this type of review, the private information or specimens cannot be linked to specific individuals by the nvestigator(s) either directly or indirectly through coding systems. To qualify, both of the following conditions must be met:
[	The private information or specimens were <u>not</u> collected specifically for this proposed research project through an interaction or intervention with living individuals. NOTE: If this condition is not met, then your research involves human subjects and requires a human subjects research submission.
	AND
(	The investigator(s) cannot readily ascertain the identity of the individuals to whom the private information or specimens pertain because: (mark which option(s) applies)
	the key to decipher the code will be destroyed before the research begins the investigator(s) and the holder of the key will enter into an agreement prohibiting the release of the key to the investigator(s) under any circumstances, until the individuals are deceased  Other. Please explain: Human teeth are needed for in situ and in vitro studies. Dentists send teeth in large jars that are completely deidentified. The jars are emptied into vats that contain hundreds of teeth that cannot be identified.  diditional information on research with coded private information or biological specimens, please refer to the OHRP
	ance on Research Involving Coded Private Information or Biological Specimens (October 16, 2008) at: //www.hhs.gov/ohrp/humansubjects/guidance/cdebiol.pdf.
dell'	SECTION III; PROJECT DESCRIPTION
1. F	rovide a brief description, in lay terms, of the purpose of the proposed project and the procedures to be used.
5	The purpose of this project is to collect human teeth from oral surgeons around the country for development into enamel pecimens for in situ and in vitro research studies. Specimens are received in bulk from dental offices and placed into large vats or sorting and development of specimens. No identifiers are provided from the oral surgeons collecting the teeth.
2. F	rovide a list of all data points that will be collected below or attach a data collection sheet.
r	
Ctat	ment of Principal Investigator. By submitting this form, the Principal Investigator acknowledges that he/she has personally

v05/01/09

reviewed this report and agrees with the above assessment.

For IRB Use Only:	
<b>X</b>	
Accepted	
Denied	
Separate human subjects application must be submitted.	
Project doesn't neet ethical principles  Other action requires:	
11/	
Authorized Signature: 1111 Authorized Signature:	NOV 2 7 2009
- Mary	_Date:

v05/01/09

# **APÊNDICE -**

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(A) Sr.(a) está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada: SUSCEPTIBILIDADE DO ESMALTE DENTÁRIO FLUORÓTICO AO DESAFIO EROSIVO E ABRASIVO, desenvolvida por CRISTIANE ARAÚJO MAIA SILVA, aluna regularmente matriculado no DOUTORADO DO PROGRAMA DE PÓSGRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do professor ANDERSON TAKEO HARA.

O objetivo da pesquisa é determinar como o esmalte dentário fluorótico se comporta em relação ao desenvolvimento de lesões de erosão/abrasão, através da avaliação da:

Investigação do impacto da presença e severidade frente à fluorose do esmalte em sua susceptibilidade à erosão e abrasão.

Investigação do efeito protetor de fluoretos à erosão e à abrasão simuladas em esmalte fluorótico de diferentes severidades de fluorose.

Justifica-se o presente estudo por se tratar de uma pesquisa que pretende testar se o maior teor de flúor protegeria o esmalte da desmineralização devido à simulação de cárie, não há um consenso sobre a resistência dos dentes fluoróticos à erosão e à abrasão, evidenciando-se a necessidade de realização de tais estudos in vitro e direcionando futuros projetos de pesquisa nesta área. A literatura sobre o tema é escassa e pouco divulgada, fato que despertou real interesse em estudá-lo e divulgá-lo.

A participação do(a) sr. (a) na presente pesquisa através da **DOAÇÃO DO(S) ELEMENTO(S) DENTÁRIO(S)** é de fundamental importância, mas será voluntária, não lhe cabendo qualquer obrigação de fornecer e/ou colaborar com esta doação se não concordar com isso, bem como, participando ou não, nenhum valor lhe será cobrado pela doação, como também não lhe será devido qualquer valor.

Ressalta-se que a indicação de extração do(s) elementos(s) dentário(s) que serão doados foi terapêutica e não apresenta nenhuma ligação com a presente pesquisa.

Caso decida não participar do estudo ou resolver a qualquer momento desistir, nenhum prejuízo lhe será atribuído. Sendo importante o esclarecimento de que os riscos da sua participação são inerentes à execução de uma exodontia, com a possibilidade de eventual desconforto trans e/ou pós-operatório, edema e hemorragia que serão evitados ou amenizados através de manobras técnicas adequadas durante o procedimento cirúrgico e uso de fármacos. Em contrapartida, os benefícios obtidos com este trabalho serão importantíssimos e traduzidos em esclarecimentos para a população estudada.

Em todas as etapas da pesquisa serão fielmente obedecidos os Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos, conforme Resolução nº. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, que disciplina as pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil.

Solicita-se, ainda, a sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos científicos ou divulgá-los em revistas científicas, assegurandose que o seu nome será mantido no mais absoluto sigilo por ocasião da publicação dos resultados.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

João Pessoa-PB, de	de 2019.
--------------------	----------

Cristiane Araújo Maia Silva Pesquisador responsável	
Participante da Pesquisa	
Obs.: Em caso do doador ser analfabeto é necessário a colet datiloscópica e assinatura de uma testemunha.	a da sua impressão
Testemunha Parti	cipante da Pesquisa

Pesquisador Responsável: Cristiane Araújo Maia Silva
Endereço do Pesquisador Responsável: Rua Reinaldo Tavares de Melo, 25/1202 – Bairro Manaíra – João Pessoa-PB CEP: 58.038-300 - Fones: (83) 998105-6061 - E-mail: cristianeten@gmail.com
E-mail do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba:
<a href="mailto:eticaccs@ccs.ufpb.br">eticaccs@ccs.ufpb.br</a> – fone: (83) 3216-7791 – Fax: (83) 3216-7791
Endereço: Cidade Universitária – Campus I – Conj. Castelo Branco – CCS/UFPB – João Pessoa-PB - CEP 58.051-900.

# APÊNDICE B – Percurso Metodológico

O percurso metodológico nesse apêndice irá tratar dos detalhes que foram realizados na metodologia do estudo.

Todo o estudo foi realizado em laboratório no Oral Health Research Institute (OHRI) – Indianápolis – IN- EUA, em duas fases distintas, a primeira em 2019 quando o doutorado iniciou e a segunda em 2021 para finalizar a etapa do experimento. Existiram etapas anteriores a fase laboratorial, com calendário de vacinas a ser cumprido para poder iniciar o laboratório e treinamentos especiais específicos, tanto em 2019, quanto em 2021.

A severidade da fluorose do esmalte nos dentes extraídos foi avaliada visualmente pelo Índice Thylstrup-Fejerskov (TFI) por 1 único examinador(CAMS). Antes da execução do estudo proposto, a calibração foi efetuada através de sessões de formação que incluíram palestras e discussão utilizando fotografias de casos clínicos. A palestra e discussão foram guiadas por fotografias dos diferentes níveis de fluorose, com a duração de 4 horas. Para além das imagens, foi realizada uma avaliação de 30 modelos com dentes naturais, cada um deles constituído por pelo menos 28 dentes que foram pontuados. A reprodutibilidade foi calculada através de coeficientes Kappa intra e inter- examinador, com os devidos intervalos.

Os resultados da pontuação do examinador foram comparados com os do orientador padrão de ouro no referido índice, com um limiar estabelecido a priori para um bom acordo entre os examinadores, em valores Kappa acima de 0,61, de acordo com a tabela 3 descrita abaixo.

Tabela 3 - Escala para a interpretação do método estatístico Kappa.

VALOR DO TESTE DE CONCORDÂNCIA KAPPA

< 0.20 Pobres

0,21 a 0,40 Fraco

0,41 a 0,60 Moderado

0,61 a 0,80 Substancial

0,81 a 1,0 Quase perfeito

(Who, 2013)

Foi observado um bom acordo entre os examinadores para o índice TFI, com um valor Kappa aceitável de 0.83.

Foi realizado um estudo piloto com 20 dentes, sendo 4 destes sadios e ainda 16 dentes distribuídos de acordo com o grau de severidade da fluorose, para que víssemos viabilidade no estudo e na metodologia, onde testamos o preparo dos espécimes, treinamentos para o preparo das solucões no Lamib – UFPB - Brasil.

Na etapa de seleção dos dentes e em seguida preparo dos espécimes, foram escolhidos todos os dentes molares, tantos os hígidos que seriam do grupo controle, quanto os dentes distribuídos agrupados na severidade da fluorose (1-2 e 3-4), conforme o estudo referência que foi utilizado, realizando a distribuição da mesma forma (Marín et al., 2016). Na etapa de separação das raízes e posteriormente divisão da coroa do dente, foi utilizado um disco de aço acoplado a motor (modelo Lapcraft Lil Trimmer), em seguida, ao obtivemos o bloco de esmalte (espécime 4x4) com o uso de um micrótomo modelo Isomet low speed, Buehler, marcamos a face oclusal com caneta preta permanente em todos os espécimes para que fossem alocados na mesma posição durante a inserção na resina acrílica e posteriormente na máquina de escovação. A superfície inferior do bloco de esmalte, foi submetida a um corte e polimento até a altura de 2,5 mm com corte e posterior regularização (Buehler), em politriz, sob constante arrefecimento a água.

A etapa de inserção na resina acrílica, utilizamos moldes de silicone, onde preparávamos aproximadamente 10 espécimes por vez, após a secagem e em seguida, removíamos com cuidado cada espécime do molde e guardávamos

umedecidos em água, em depósito com tampa, para iniciarmos o escaneamento inicial pelo perfilômetro.

Na etapa que compreendeu o escaneamento no perfilômetro através de perfilometria óptica para analisar a profundidade do desgaste simulado, houve necessidade de obtenção de parâmetros viáveis no tempo de varredura de cada espécime, após dois dias de tentativas, chegamos a esses parâmetros onde as digitalizações foram realizadas utilizando o sensor S65/10 (10 mm), com X = 0,03, 180 passos; Y = 0,03, 180 passos e analisadas utilizando software dedicado (Proscan 2000 software, V2.1.1.10, Scantron), chegando a 6 minutos por escaneamento/espécime, utilizando o perfilômetro Proscan 2000 profilometer, Scantron Industrial Products Ltd, Taunton Somerset TA2 8DE, Inglaterra, antes e depois das simulações.

Para o cálculo amostral, usamos dados dos dois grupos mais díspares em termos de diferenças esperadas, conforme recomendado na literatura (Cohen, 1988). O cálculo amostral foi realizado com base no estudo de Marin et al. (2016), que estudou a diferença na susceptibilidade do esmalte fluorótico de dentes permanentes humanos ao desafio cariogênico in vitro e relatou uma magnitude de efeito G de Hedge de 1,375 entre os grupos mais díspares (TF 0 e TF 3-4). Usando um poder de 80%, nível de significância de 5% e direcionalidade unicaudal, foi calculado um tamanho amostral de 8 amostras por grupo.

Durante a fase de exposição da área teste as soluções, foi deixado 1 mm de cada lado do espécime 4x4, recoberto tanto pelo esmalte de unha na cor vermelha, quanto colado com fita recobrindo o esmalte de unha para garantir que não se soltassem nem fossem removidos, tanto esmalte de unha quanto a fita, durante o ataque erosivo do ácido, ao ataque abrasivo pelas pastas e pela máquina de escovação. A área teste ficou, portanto, com cerca de 2mm no centro do espécime.

Durante o momento de escaneamento pelo perfilômetro, todos os espécimes foram numerados no mesmo lugar que anteriormente continha a marcação da face oclusal. E ao iniciar a ciclagem, os espécimes foram demarcados também com caneta permanente nas cores das etiquetas que continham as pastas abrasivas, verde para os espécimes que seriam colocados na pasta de baixa abrasivade, azul para a média abrasividade e vermelho para a alta abrasividade.

No momento da ciclagem, os espécimes foram organizados em depósitos preparados com o mesmo volume das soluções, etiquetados de acordo com a cor específica inserido em ácido, água (controle) e em saliva, totalizando que fossem ciclados 6 (seis) vezes no ácido ou água e 3 (três) vezes na máquina de escovação. Durante a passagem na máquina de escovação, cada sessão durava cerca de 1 (uma) hora e meia, até que fossem escovados os 18 grupos com 08 amostras cada um, separando-os pelas três diferentes pastas e sendo higienizada a máquina, a cada passagem de pasta para que não houvesse restos e detritos da pasta anterior. O total de tempo da ciclagem diária era de nove horas e mais uma hora para a confecção das soluções de uso diário.

No momento do preparo da saliva artificial (segue composição na Tabela 4), eram fabricados 5 litros de saliva segundo a composição seguida do próprio OHRI e descrita na tabela abaixo. Essa saliva tinha validade de apenas 7 (sete) dias, necessitando, pois, nova confecção durante os 10 dias de ciclagem. Já o preparo das pastas abrasivas (segue composição na Tabela 5), seguiam o discriminado na tabela que se segue, feitas diariamente durante os 10 dias e discriminadas com etiquetas coloridas nas cores verde, azul e vermelha, denotando as pastas, baixa, média e alta abrasividade, respectivamente. Durante a escovação, eram colocados em cada frasco contendo a pasta abrasiva o mesmo volume de 60 ml padronizados e marcados e antes de serem utilizadas nas três vezes durante ao dia, eram agitadas em agitador que acondicionava os 24 frascos com as pastas diferentes de modo que não permitisse que o conteúdo abrasivo decantasse ao fundo do frasco.

Tabela 4 - Composição para preparo de saliva artificial.

Chemical Componente	Concentration	Amount
CaCl <sub>2</sub> – 2H <sub>2</sub> O	1.45mM	0.213g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5.4mM	0.738g
Gastrin Mucin	2.2g/L	2.2g
KCL	1.114g/L	1.114g
NaCL	0.381g/L	0.381g
TRIS BUFFER	-	12g

Tabela 5 - Composição e abrasividade das pastas abrasivas

Abrasivos	Carga Abrasiva (%)	Quantidade (g)	0,5% CMC (g)	DI- Água (g)	RDA*	Fabricantes
A. Zeodent	5	3	57	-	69.2	Huber
113 (Baixa)					(2.6)	Engineered Materials, Havre de Grace, MD, USA
B. Zeodent 124 (Médio)	10	6	54	-	146.9 (3.5)	Huber Engineered Materials, Havre de Grace, MD, USA
C. Zeodent 103 (Alta)	15	9	51	-	208.0 (9.4)	Huber Engineered Materials, Havre de Grace, MD, USA