

## **RESULTADOS FINAIS**

(LLUSD-CDR-02329)

### ***Avaliação in vitro dos Efeitos do Gel de Procedimento BriteSmile, com ou sem Três Regimes de Pré-tratamento, em Esmalte Dental Humano – Estudos de Micro-dureza e de Mapeamento por Microscópio Eletrônico - SEM***

Loma Linda University School of Dentistry  
Center for Dental Research  
11092 Anderson Street  
Loma Linda, CA 92350  
October 7, 2002

LLUSD-CDR-02329 2

## **RELATÓRIO FINAL**

(LLUSD-CDR-02329)

### **Título**

Avaliação in vitro dos Efeitos do Gel de Procedimento BriteSmile, com ou sem Três Regimes de Pré-tratamento, em Esmalte Dental Humano – Estudos de Micro-dureza e de Mapeamento por Microscópio Eletrônico - SEM

### **Agência Patrocinadora**

Oraceutical  
481 Pleasant Street  
Lee, MA 01238  
Att.: R. Eric Montgomery

### **Agência Condutora**

Center for Dental Research  
Loma Linda University School of Dentistry  
11092 Anderson Street  
Loma Linda, CA 92350

### **Número do Estudo**

Centro LLUSD para Pesquisa Dental Número do Estudo: CDR02329

### **Pesquisador Principal**

Yiming Li, Ph.D.  
Professor

### **Co-Pesquisadores**

Wu Zhang, M.D., BGS  
Professor Assistente  
Omari Onyango, D.D.S., M.P.H.  
Pesquisador Técnico  
Elmer Sihotang, B.S.  
Pesquisador Técnico

### **Propósito**

O propósito deste estudo foi avaliar os efeitos do Gel de Procedimento BriteSmile com ou sem um dos três regimes de pré-tratamentos de dentes humanos extraídos, utilizando as avaliações de micro-dureza e o Mapeamento por Microscópio Eletrônico – SEM, em conformidade com as orientações da ADA (1998).

### **Materiais e Métodos**

O Gel de Procedimento BriteSmile e três agentes de pré-tratamento foram fornecidos pelo patrocinador do estudo. Os materiais-teste foram recebidos em 3 de Agosto de

2002, e estocados a 4 °C até serem testados, seguindo as instruções do fabricante. Um total de 50 espécimes de esmaltes foi preparado a partir de dentes incisivos, sem lesões ou restaurações na face labial, extraídos de humanos. O uso de dentes humanos extraídos para o presente projeto foi aprovado pelo Conselho de Inspeção Institucional da Universidade Loma Linda (IRB). LLUSD-CDR-02329 3

Um núcleo (polpa) de esmalte (3 mm de diâmetro) foi removido do dente usando-se uma sonda de prospecção de diamante, com água desoinizada como agente de resfriamento. A face oclusal da polpa do esmalte foi identificada com uma caneta marcadora. Os espécimes de esmalte foram aparados, montados em varetas de plástico, lixados levemente, usando-se uma lixa granular do tipo 600 de silicone e carboneto, sob um fluxo constante de água, e então polida com Gamma Alumina (0.05 µm). Os preparos de amostras de esmalte humano, de acordo com os procedimentos acima, têm sido usados anteriormente em estudos de remineralização - desmineralização. Estas amostras oferecem também uma superfície lisa para mensurações de micro-dureza confiáveis, e que podem ser repetidas. Durante o experimento, tomou-se o cuidado de evitar a desidratação do esmalte, por causa dos efeitos adversos que uma desidratação do esmalte pode vir a causar na confiabilidade dos dados de micro-dureza (Gaspersic, 1995).

Três leituras de Índice de Dureza (Knoop Hardness Number - KHN) foram tomadas para cada amostra, sob 200 gramas de carga por 15 segundos, usando um Testador de Micro-dureza Leco (M-400-H1, St. Joseph, Michigan). As amostras foram randomicamente alocadas nos seguintes cinco grupos:

Grupo	N	Tratamento	Duração/Tratamento	No. do Tratamento	
A	PBS-Controle	10	PBS <sup>a</sup>	20 minutos	4
B	Experimental	10	Britesmile (BS) Gel	20 minutos	4
C	Experimental	10	PT-EXP 001 / BS Gel	20 minutos	4
D	Experimental	10	PT-EXP 002 / BS Gel	20 minutos	4
E	Experimental	10	PT-EXP 003 / BS Gel	20 minutos	4

<sup>a</sup> Solução salinizada antiácida de fosfato

Amostras no Grupo A (grupo controle) foram tratadas com Solução salinizada antiácida de fosfato, pH 7.4. No Grupo B, a superfície do esmalte foi coberta com o Gel de Procedimento BriteSmile com 1 a 2 mm de espessura. As amostras foram então iluminadas com a luz BriteSmile por 20 minutos. O gel foi removido por sucção e o tratamento foi repetido por mais três vezes, com um total de exposição à luz de 80 minutos.

Os mesmos procedimentos foram usados para tratar as amostras dos Grupos C, D e E, com exceção de uma aplicação de uma camada fina de PT-EXP001, PT-EXP002 ou PT-EXP003 na superfície do dente, com uma escova aplicadora, por aproximadamente 30 segundos, antes do Gel de Procedimento BriteSmile. Um total de quatro tratamentos foi executado (80 minutos) para cada grupo. Os espécimes tratados foram mensurados pelo KHN outra vez, usando os mesmos procedimentos.

Para a avaliação do SEM, as amostras de esmalte foram enxaguadas a fundo com água desoinizada, fixadas em glutaraldeído em cacodilato a 5% (0.1 M, pH 7.2) por 24 horas, enxaguadas três vezes com solução de cacodilato (0.1 M, pH 7.2), e pós-fixadas com tetróxido de ósmio a 1%, por 30 minutos a 4°C, e então mais 30 minutos à temperatura ambiente. As amostras foram desidratadas com uma série crescente de

soluções de álcool e tratados com HMDS (hexamethyldisilazane) por 15 minutos. Os espécimes foram então armazenadas em um dissecador por três dias, ligados a fragmentos de alumínio com coloração coloidal prateada e jateados com paládio dourado, por aproximadamente 15 nm, para a avaliação com o SEM ((XL30-FEG, Philips, Holanda), a uma voltagem crescente de 15 kV. Cada amostra foi examinada com aumentos de 200x e 2.000x para a morfologia da superfície, e fotos microscópicas representativas foram feitas de cada Grupo para propósitos ilustrativos).

As médias e desvios-padrão das medidas KHN, as diferenças entre os parâmetros e as mensurações finais foram então calculadas. Os dados obtidos com os cinco grupos foram analisados, segundo a Análise de Discrepâncias Unidirecional (ANOVA). Quando encontrada alguma diferença significativa, foi utilizado o método de "Student-Newman-Keuls" para determinar o significante entre as médias. Os dados de pré e pós-tratamento para cada grupo foram analisados pelo "Student t-Test". A avaliação SEM foi descritiva.

LLUSD-CDR-02329 4

### **Resultados e Discussão**

Os resultados de micro-dureza do esmalte estão na Tabela 1. Os valores de parâmetros médios obtidos estiveram dentro de uma faixa normal dos dados publicados e dos resultados históricos deste laboratório. As mensurações KHN foram semelhantes entre o Gel de Procedimento BriteSmile e os Grupos de Controle, tanto no ponto de partida, quanto após os tratamentos. Um aumento mínimo insignificante no KHN foi observado nos Grupos de Gel de Procedimento BriteSmile e de pré-tratamento PT-EXP001. Uma redução modesta no KHN foi detectada nos Grupos tratados com o pré-tratamento PT-EXP002 (-3.6%) e PT-EXP003 (-4.5%), quando comparado com os seus pontos de partida KHN. As alterações não foram estatisticamente diferentes (Tabela 1).

Fotos microscópicas SEM representativas da superfície do esmalte humano são apresentadas nas Figuras de 1 a 5. Tanto no aumento de 200x como no de 2000x, a morfologia da superfície foi semelhante entre as amostras de controle e aquelas tratadas com o Gel de Procedimento BriteSmile, com ou sem algum dos três pré-tratamentos.

### **Conclusões**

Sob as condições deste estudo, concluiu-se que o tratamento com o Gel de Procedimento BriteSmile, com ou sem qualquer um dos três pré-tratamentos, testados em até quatro vezes, por 20 minutos cada, num total de 80 minutos, não possui efeitos adversos na micro-dureza e na morfologia do esmalte humano.

### **Boa Prática de Laboratório (Good Laboratory Practice GLP)**

Este estudo foi conduzido seguindo as diretrizes da FDA para Boa Prática de Laboratório para Estudos Não-Clínicos em Laboratório. ("Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies"-21 CFR Parte 58).

### **Referências**

- American Dental Association Council on Scientific Affairs (1998) *American Dental Association Acceptance Program Guidelines for Home-use Tooth Whitening Products*. Maio 1998.
- Gaspersic, D (1995) Enamel microhardness and histological features of composite enamel pearls of different size. *J Oral Pathol Med* 24:153-158.

Yiming Li, D.D.S., M.S.D., Ph.D. Wu Zhang, M.D., B.G.S.  
 Omari Onyango, D.D.S., M.P.H. Elmer Sihotang, B.S.  
 7 de Outubro de 2002

Data  
 LLUSD-CDR-02329 5

Tabela 1  
 Efeito do Gel BriteSmile, com ou sem Pré-tratamento, na  
 Micro-dureza do Esmalte Humano, na avaliação de Knoop

Grupo		N				Valor de Dureza de Knoop (Média ± SD) <sup>a</sup>					
Pré-tratamento		Pós-tratamento		Variação		p-valor <sup>b</sup>					
Controle (PBS)	10	309.1	±	19.6	316.2	±	23.8	7.2	±	24.2	0.472
BriteSmile Gel	10	309.1	±	19.3	320.7	±	18.4	11.6	±	14.5	0.185
PT-EXP001 / BriteSmile	10	308.6	±	23.6	321.2	±	24.5	12.6	±	28.0	0.257
PT-EXP002 / BriteSmile	10	309.2	±	22.3	304.9	±	22.8	-4.3	±	29.1	0.673
PT-EXP003 / BriteSmile	10	309.2	±	19.7	302.1	±	28.2	-7.1	±	20.4	0.522
p-valor		1.000		0.243		0.227					

<sup>a</sup> Valores com colchetes não são significativamente discrepantes como determinado pela Análise de Discrepâncias Unidirecional (“One-Way ANOVA”) e o método “Student-Newman-Kuels”.

<sup>b</sup> Comparação entre os valores de pré e pós-tratamento usando o “Student t-test”.

LLUSD-CDR-02329 6

**A**  
**B**

Figura 1. Fotografias microscópicas SEM da superfície do esmalte humano tratado com solução salinizada antiácida de fosfato (controle). A: aumento de 200x; B: aumento de 2,000x.

LLUSD-CDR-02329 7

**A**  
**B**

Figura 2. Fotografias microscópicas SEM da superfície do esmalte humano tratado com Gel de Procedimento BriteSmile, por quatro vezes, cada uma por 20 minutos. A: aumento de 200x; B: aumento de 2,000x.

LLUSD-CDR-02329 8

**A**  
**B**

Figura 3. Fotografias microscópicas SEM da superfície do esmalte humano tratado com

Pré-tratamento PT-EXP001 e Gel de Procedimento BriteSmile, por quatro vezes, cada uma por 20 minutos. A: aumento de 200x; B: aumento de 2,000x.

*LLUSD-CDR-02329 9*

**A**

**B**

Figura 4. Fotografias microscópicas SEM da superfície do esmalte humano tratado com Pré-tratamento PT-EXP002 e Gel de Procedimento BriteSmile, por quatro vezes, cada uma por 20 minutos. A: aumento de 200x; B: aumento de 2,000x .

*LLUSD-CDR-0232910*

**A**

**B**

Figura 5. Fotografias microscópicas SEM da superfície do esmalte humano tratado com Pré-tratamento PT-EXP003 e Gel de Procedimento BriteSmile, por quatro vezes, cada uma por 20 minutos. A: aumento de 200x; B: aumento de 2,000x .

*LLUSD-CDR-02329*