

## **Influência da formação de película adquirida e aplicação tópica de flúor na microdureza do esmalte tratado com peróxido de hidrogênio a 35%**

### ***Influence of acquired pellicle formation and topical fluoride application on microhardness of bleached enamel with 35% hydrogen peroxide***

**Lilian Harumi KARASAWA**

Cirurgiã-dentista - Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP – Piracicaba - SP - Brasil.

**Cristiane Franco PINTO**

Professora Auxiliar – Departamento de Odontologia – Universidade São Francisco - Bragança Paulista - SP - Brasil.

**Vanessa CAVALLI**

Professora Assistente – Departamento de Odontologia – Universidade de Taubaté – Taubaté - SP – Brasil.

**Adriana Franco Paes LEME**

Coordenadora do Laboratório de Espectrometria de Massas – Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – Campinas - SP - Brasil.

**Sandrine Bittencourt BERGER**

Professora Adjunta – Departamento de Odontologia Restauradora – Universidade Norte do Paraná - Londrina - PR - Brasil.

**Marcelo GIANNINI**

Professor Associado – Departamento de Odontologia Restauradora – Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP – Piracicaba - SP - Brasil.

---

#### **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da formação da película adquirida (PEA) e da aplicação tópica de flúor (ATF) após o tratamento com peróxido de hidrogênio a 35% na microdureza Knoop do esmalte. Foram obtidas 120 amostras de esmalte (4x4x4 mm), a partir das superfícies vestibulares de 60 incisivos bovinos. As amostras foram preparadas para a leitura de microdureza de superfície (inicial) e aleatoriamente divididas em quatro grupos (n=30): (1) Esmalte sem formação de PEA e sem ATF pós-tratamento clareador (controle); (2) Esmalte sem formação de PEA e com ATF pós-tratamento clareador; (3) Esmalte com formação de PEA e sem ATF pós-tratamento clareador; (4) Esmalte com formação de PEA e com ATF pós-tratamento clareador. Os dentes foram submetidos a 12 dias de ciclagem de pH, concomitante com o clareamento (Pola Office, SDI, Bayswater, Victoria, Austrália), que foi realizado no 1º, 6º e 12º dia de ciclagem. Após a ciclagem de pH, foi realizada a leitura da microdureza superficial final e da microdureza longitudinal do esmalte tratado. Todos os grupos experimentais mostraram redução da microdureza superficial do esmalte após os tratamentos realizados. Os valores médios (iniciais e finais) foram semelhantes entre os grupos experimentais. Com relação à microdureza longitudinal, somente na primeira profundidade (10 µm) observou-se redução significativa da microdureza, com relação às demais profundidades analisadas. Esses valores médios, em 10 µm, não diferiram entre os grupos experimentais, assim como as outras profundidades analisadas também não diferiram entre os grupos. A microdureza do esmalte não foi afetada pela formação de PEA, tampouco pela ATF.

#### **UNITERMOS**

Esmalte dentário; clareamento de dente; peróxido de hidrogênio; dureza; película dentária; fluoretos tópicos.

## INTRODUÇÃO

O peróxido de hidrogênio a 35% tem sido utilizado por mais de 50 anos na técnica clareadora em consultório. Este método era utilizado para tratar principalmente dentes com alterações de cor devidas à ingestão de tetraciclina [1-4]. Embora essa técnica seja eficaz, ainda existem preocupações em relação aos efeitos do peróxido de hidrogênio a 35% em tecidos moles e dentais mineralizados. Alguns estudos indicam que as altas concentrações do peróxido de hidrogênio são capazes de diminuir a microdureza superficial do esmalte dental, aumentar a rugosidade [5], alterar a morfologia do substrato clareado [6] e diminuir a resistência intrínseca do esmalte [7].

Esses efeitos adversos podem estar relacionados com o pH desses agentes clareadores e com a reação do peróxido na superfície do esmalte. Alguns produtos de consultório que contêm o peróxido de hidrogênio a 35% como princípio ativo podem apresentar pH ácido com valor de aproximadamente 3,7 [8]. Estudos têm mostrado que o uso de fluoretos durante e após o clareamento pode reduzir a perda mineral, revertendo os possíveis efeitos adversos e até aumentando a microdureza do esmalte [9-14].

A técnica de clareamento em consultório é feita pela aplicação dos agentes clareadores em dentes limpos, secos e isolados com dique de borracha ou barreiras gengivais feitas com resina fotopolimerizável. No entanto, não se sabe se a película adquirida formada na superfície dental antes do tratamento clareador poderia minimizar os efeitos adversos causados pelos agentes clareadores, uma vez que a película adquirida é responsável pela proteção dos dentes contra a dissolução ácida e a perda da camada superficial do esmalte, chamada de erosão, produzidas por soluções ácidas [15-19].

O objetivo desse estudo foi verificar a influência da película adquirida formada na superfície do esmalte e o efeito da aplicação tópica de flúor neutro pós-clareamento na microdureza Knoop do esmalte. As hipóteses testadas foram as de que a película adquirida e a aplicação tópica de flúor pós-clareamento poderiam prevenir as alterações na microdureza promovidas pelo clareamento com peróxido de hidrogênio a 35%.

## MATERIAL E MÉTODO

Nesta pesquisa, foram utilizados 60 dentes bovinos. Depois de armazenados por até 30 dias em solução de timol (0,1%) [20-21], os dentes foram limpos com curtas periodontais e com taça de borracha, pedra pomes e água, em baixa rotação. As raízes foram removidas

por secção com disco diamantado na região cervical, a 2 mm da junção amelodentinária (série 15HC Diamond, No. 11-4244; Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA). Cento e vinte blocos de esmalte bovino (4 x 4 x 4 mm) foram obtidos da superfície vestibular dos dentes, por meio de secções da coroa também com disco diamantado. As amostras foram preparadas para a leitura de microdureza de superfície (inicial) e aleatoriamente divididas em quatro grupos (n=30).

A superfície do esmalte foi planificada em politriz elétrica (APL-4, Arotec S.A. Ind. Com., Cotia, SP, Brasil) com lixas de óxido de alumínio de granulação 400, 600 e 1000 µm, respectivamente. Em seguida, as amostras de esmalte foram polidas, na mesma politriz, com feltros e pastas de diamantes nas granulações de 6, 3, 1 e ¼ µm. Entre cada lixamento e os polimentos, as amostras de esmalte eram colocadas em cuba ultrassônica (T7, Thornton Inpec Eletrônica, Vinhedo, SP, Brasil) contendo água destilada e deionizada, por 5 minutos. A área central do esmalte dental foi isolada posicionando-se um adesivo (Papel Contact, Vulcan, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) com o diâmetro de 7 mm<sup>2</sup>. Aplicou-se esmalte cosmético para unhas (Colorama, L'oréal Brasil, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) na área remanescente da superfície do esmalte polido e nas outras superfícies da amostra [21-22]. Assim, após a remoção do papel adesivo, obteve-se uma área exposta de 7 mm<sup>2</sup> de esmalte.

Para a determinação da microdureza inicial da superfície do esmalte dental, foram realizadas 5 impressões na região central do bloco de esmalte com um microdurômetro Knoop (Microhardness Tester FM, Future-Tech Corporation, Tóquio, Japão), carga estática de 50 gramas, durante 5 segundos. As amostras apresentaram microdureza média de 353,8 ± 70,8 Knoop (KHN) e foram aleatoriamente divididas em quatro grupos experimentais (n = 20) (Tabela 1). Todos os grupos foram submetidos a 12 dias de ciclagem de pH e durante esse período foram feitas três sessões de clareamento.

O tratamento clareador foi realizado em três sessões com Pola Office (SDI, Bayswater, Victoria, Austrália) no 1º, 6º e 12º dia de ciclagem, utilizando 0,01 g do gel clareador em cada aplicação. Três aplicações do gel clareador por 10 minutos foram feitas por sessão. Em cada aplicação, o gel foi irradiado com LED/laser de diodo (Ultrablue Laser System, DMC Equip. Ltda, São Carlos, SP, Brasil) por 2 minutos e 30 segundos. O esmalte dental foi tratado com o agente clareador por um tempo total de 30 minutos por sessão. Após cada aplicação, a superfície era abundantemente lavada com água oxigenada 10 volumes e o

processo repetido por mais duas vezes, exceto após a terceira aplicação do gel, quando as amostras eram lavadas com água destilada e deionizada [22-23].

**Tabela 1 - Grupos experimentais**

| Grupos       | Película Adquirida | Aplicação Tópica de Flúor |
|--------------|--------------------|---------------------------|
| 1 (controle) | NÃO                | NÃO                       |
| 2            | NÃO                | SIM                       |
| 3            | SIM                | NÃO                       |
| 4            | SIM                | SIM                       |

O processo de ciclagem de pH das amostras foi dividido em quatro etapas diárias:

1 - Tratamento das amostras com solução de dentifício fluoretado (1100 ppm de fluoreto, Sorriso Fresh, Colgate-Palmolive, São Paulo, SP, Brasil) na proporção de 3:1, três vezes ao dia nos horários das 7, 14 e 21 horas, durante 1 minuto [21-22].

2 - Armazenamento em solução remineralizante [20] a 37 °C, durante o período entre os tratamentos. As amostras dos grupos com película adquirida foram colocadas em saliva humana (coletada diariamente – Comitê de Ética – processo 156/2006), durante duas horas por dia (17 h às 19 h), para que ocorresse a formação da película adquirida, antes do tratamento clareador.

3 - Imersão em 6,25 mL/mm<sup>2</sup> de solução desmineralizante [20], durante duas horas por dia (12 h às 14 h).

4 - Clareamento realizado por 30 minutos em cada sessão. Decorrido o período de clareamento, as amostras foram lavadas abundantemente com água destilada e deionizada e depositadas novamente em saliva artificial [20]. As amostras dos grupos com aplicação tópica de flúor neutro (Flúor Care, FGM Prod. Odontol., Joinville, SC, Brasil) foram tratadas por 1 minuto, após o clareamento. A aplicação tópica utilizou fluoreto de sódio (12300 ppm de F) com pH de 6,0 na forma de espuma. Foram feitas 3 aplicações, uma em cada sessão de clareamento, sempre após a terceira aplicação do agente clareador.

A solução desmineralizante utilizada na ciclagem de pH foi trocada após o sexto dia, enquanto a solução remineralizante era trocada a cada dois dias. Decorridos os 12 dias de ciclagem de pH, as amostras foram submetidas à leitura final da microdureza superficial do esmalte. Os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA) dois fatores (tratamento e tempo da avaliação) e pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ).

Após a leitura da microdureza de superfície final, foi avaliada a microdureza longitudinal do esmalte tratado. As amostras foram seccionadas no centro por corte lon-

gitudinal com disco diamantado acoplado à cortadeira de precisão (Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, EUA), obtendo duas hemiamostras de cada bloco de esmalte. Apenas uma das hemiamostras obtidas de cada bloco foi utilizada para a leitura da microdureza interna. Elas foram incluídas em resina de poliestireno com a face seccionada voltada para a superfície. Tais faces foram planificadas com lixas de óxido de alumínio (granulações 320, 600 e 1200) e polidas com pastas diamantadas, de modo similar ao que é feito na superfície do esmalte e com o mesmo tratamento por ultrassom.

As impressões foram feitas no centro da amostra nas distâncias de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140 e 160  $\mu\text{m}$  da superfície anatômica do esmalte [22]. Mais duas séries de impressões foram repetidas em ambos os lados da primeira, numa distância de 100  $\mu\text{m}$  dessa primeira série de impressões. As impressões foram realizadas com uma carga de 25 gramas por 5 s. As médias de microdureza obtidas nas três impressões na mesma profundidade e em cada hemiamostra foram calculadas a cada distância da superfície do esmalte. Os dados foram analisados pela ANOVA dois fatores (tratamento e profundidade da leitura) e pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ).

## RESULTADOS

As médias de microdureza Knoop (KHN) da superfície do esmalte estão apresentadas na Tabela 2. A ANOVA não mostrou diferenças significantes para o fator “tratamento”; entretanto, indicou pelo menos uma diferença significativa no fator “tempo de avaliação”. Os grupos experimentais não apresentaram diferenças estatísticas significantes na microdureza do esmalte antes e nem depois dos tratamentos ( $p > 0,05$ ). O teste de Tukey mostrou que a microdureza inicial na superfície do esmalte foi maior que microdureza final para todos os grupos experimentais ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2 - Médias (desvio padrão) da Microdureza Knoop (KHN) da superfície do esmalte tratado de acordo com o grupo experimental**

| Grupos       | Microdureza Inicial | Microdureza Final |
|--------------|---------------------|-------------------|
| 1 (controle) | 363,8 (43,0) Aa     | 122,3 (32,2) Ba   |
| 2            | 357,4 (33,3) Aa     | 106,4 (33,3) Ba   |
| 3            | 364,1 (39,4) Aa     | 130,4 (22,7) Ba   |
| 4            | 364,5 (38,6) Aa     | 113,2 (26,6) Ba   |

As letras maiúsculas comparam a microdureza inicial e final dentro de mesmo grupo ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas indicam diferença estatística entre os grupos, dentro da mesma leitura de microdureza (inicial ou final) ( $p < 0,05$ ).

Com relação à microdureza Knoop interna, a ANOVA mostrou diferença significativa para o fator “profundidade da leitura”, entretanto, diferenças entre os grupos experimentais não foram observadas no fator “tratamento”. Os grupos experimentais produziram semelhantes médias de microdureza em todas as profundidades analisadas ( $p > 0,05$ ). O teste de Tukey mostrou que, na profundidade de 10  $\mu\text{m}$ , a microdureza foi menor que nas demais profundidades analisadas e que as outras profundidades não diferiram entre si (Figura 1).

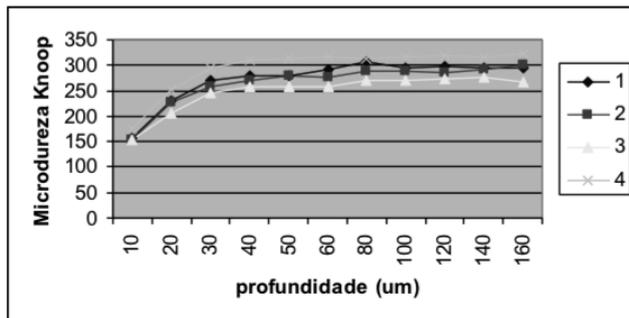


Figura 1 - Gráfico da microdureza Knoop (KHN) do esmalte dental em função da profundidade ( $\mu\text{m}$ ) da mensuração da microdureza (em relação à superfície tratada com o agente clareador).

## DISCUSSÃO

As hipóteses de que a película adquirida e a aplicação tópica de flúor pós-clareamento poderiam interferir nas alterações da microdureza promovidas pelo clareamento com peróxido de hidrogênio a 35% não foram confirmadas nos resultados obtidos. A formação da película sozinha, a aplicação tópica de flúor sozinha, ou a combinação entre a película adquirida e a aplicação de flúor não foram capazes de evitar a perda mineral na superfície do esmalte promovida pelo clareamento dental e a ciclagem de pH. Isso pode ser verificado nos valores médios de microdureza Knoop ao final dos tratamentos, os quais foram semelhantes entre si. As médias dos grupos também foram semelhantes antes dos tratamentos, mostrando a preocupação do estudo em ter amostras de esmalte com valores similares de microdureza Knoop. O estudo determinou uma microdureza média de  $353,8 \pm 70,8$  Knoop (KHN) para que a amostra de esmalte pudesse ser utilizada e não interferisse negativamente nos resultados.

Embora a formação da película não fosse capaz de reduzir a perda mineral, vários estudos mostram que ela pode proteger a estrutura dental contra desafios ácidos, que produzem erosão do esmalte e da dentina [15-19]. A película adquirida é composta por proteí-

nas salivares e funciona como uma barreira ou membrana semipermeável que impede o contato direto dos fluidos orais e das substâncias ingeridas com a estrutura dental. Entretanto, a ação desta membrana é dependente da agressividade e do tipo de desafio ácido [16,18], da espessura da estrutura da película [15] e do tempo de maturação da película formada na superfície do esmalte [15]. Neste estudo, a película adquirida foi formada pela imersão dos blocos de esmalte em saliva humana diariamente por 2 horas, segundo o protocolo de Shinkai et al. [24]. A ciclagem de pH e a aplicação do peróxido de hidrogênio a 35% podem ter sido agressivos suficientemente para atacar a estrutura dental e eliminar a influência da película nos resultados.

Assim como a película adquirida, a aplicação tópica de flúor neutro não conseguiu manter ou recuperar a dureza inicial do esmalte. O fluoreto de sódio (12300 ppm de F) com pH igual a 6,0 foi aplicado na forma de espuma sobre a superfície dental; cada aplicação teve duração de 1 minuto. Foram feitas 3 aplicações, uma em cada sessão de clareamento, sempre após a terceira aplicação do agente clareador. O uso de fluoretos, para inibir a perda mineral durante o clareamento, tem sido feito na forma de aplicações tópicas durante e após o clareamento e na escolha de agentes clareadores contendo fluoreto [9,11-14]. Pretty et al. [25] mostraram que agentes clareadores à base de peróxido de carbamida contendo fluoretos não aumentaram a susceptibilidade do esmalte à erosão ou à cárie. Além disso, a aplicação tópica de flúor em alta concentração foi importante na remineralização do esmalte após o clareamento.

Um dos motivos que pode explicar a ausência de efeito da aplicação tópica de flúor é o fato de que a reação de degradação de peróxido e sua ação no esmalte promovem dissolução mineral, que causa exposição dos prismas e aumento da porosidade na superfície [5-6,23,26-27]. A forte desmineralização ou a erosão na superfície do esmalte podem dificultar a remineralização que foi tentada com o uso dos fluoretos e com a imersão das amostras de esmalte numa solução remineralizante por duas horas durante a ciclagem. Além do peróxido em alta concentração (35%), o agente clareador utilizado possui pH 5,5 e tal acidez também pode ajudar na desmineralização durante o clareamento. Estas informações podem ser relacionadas com a queda nos valores médios de microdureza Knoop do esmalte para todos os grupos experimentais [5, 6, 8, 28]. Em média, a redução da dureza do esmalte promovida pelos tratamentos foi de aproximadamente 67%. Além do peróxido, o líquido

do produto tem água destilada e estabilizante. No pó, encontram-se um espessante, um catalisador, alguns pigmentos e um dessensibilizante [29].

Embora as alterações na superfície do esmalte clareado com peróxido de hidrogênio a 35% sejam evidentes e bastante relatadas na literatura dental [5-6,23,26,27], seu efeito em profundidade foi pouco investigado [30,31]. Neste estudo, notou-se que somente na primeira profundidade estudada (10 µm) a microdureza do esmalte interno foi menor que nas demais profundidades analisadas. Da profundidade de 20 µm até a mensuração em 160 µm de distância da superfície do esmalte, não se observou diferença estatística entre as médias de microdureza em cada profundidade. É provável que o esmalte se apresentasse hígido a partir de 20 µm até 160 µm de profundidade. Desta forma, pôde-se concluir que as alterações promovidas pelo peróxido de hidrogênio a 35%, com redução da microdureza Knoop, foram concentradas

na superfície dental até aproximadamente 10 µm de profundidade.

## CONCLUSÕES

A presença de película adquirida e/ou a aplicação tópica de flúor não foram capazes de reduzir a desmineralização na superfície do esmalte dental produzida pelo tratamento clareador e ciclagem de pH. Além disso, os resultados mostraram que o efeito do tratamento clareador foi superficial, sendo que somente na primeira profundidade estudada (10 µm) observou-se redução significativa da microdureza interna. A partir de 20 µm, o esmalte já se apresentava íntegro.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo teve suporte financeiro da FAPESP (05/60307-6) e do CNPq (303587/2007-5).

---

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of acquired salivary pellicle formation (SPF) and the topical application of fluoride (TAF) post-bleaching with 35% hydrogen peroxide on the Knoop microhardness of enamel. Sixty bovine incisors were used. One hundred twenty enamel blocks (4x4x4 mm) were obtained from the buccal surfaces of these teeth. The enamel surfaces were prepared for microhardness measurements (baseline) and randomly divided into 4 groups (n=30): 1) enamel without SPF and TAF (control); 2) enamel without SPF and treated with ATF; 3) enamel with PEA and without ATF; and 4) enamel with PEA and treated with TAF. The enamel blocks were submitted to a 12-day pH-cycling, and the bleaching agent (Pola Office, SDI, Bayswater, Victoria, Australia) was applied at the 1st, 6th and 12th days of cycling. After the treatments, the surface microhardness and the internal microhardness were measured. All the groups showed a reduction in the enamel surface microhardness after the treatments. The mean values (baseline and final) were similar among the groups. The internal microhardness was lower at the first depth (10 µm). The mean values of microhardness at 10 µm were similar among the groups, and the other means did not differ among them. SPF and TAF did not affect enamel microhardness.

## UNITERMS

Dental enamel; tooth bleaching; hydrogen peroxide; hardness; dental pellicle; topical fluorides.

---

## REFERÊNCIAS

1. Smith HV, McInnes JW. Further studies on methods of removing brown stain from mottled teeth. *JADA*. 1942 Apr;29(1):571-7.
2. Cohen S, Parkins FM. Bleaching tetracycline-stained vital teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1970 Mar;29(3):465-71.
3. Arens DE, Rich JJ, Healey HJ. A practical method of bleaching tetracycline-stained teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1972 Nov;34(5):812-7.
4. Corcoran JF, Zillich RM. Bleaching of vital tetracycline stained teeth. *J Mich State Dent Assoc*. 1974 Dec;56(12):340-3.
5. Pinto CF, Oliveira R, Cavalli V, Giannini M. Peroxide bleaching agents effects on enamel surface microhardness, roughness and morphology. *Braz Oral Res*. 2004 Oct-Dec;18(4):306-11.
6. Titley K, Torneck CD, Smith D. The effect of concentrated hydrogen peroxide solutions on the surface morphology of human tooth enamel. *J Endod*. 1988 Feb;14(2):69-74.
7. Silva AP, de Oliveira R, Cavalli V, Arrais CA, Giannini M, de Carvalho RM. Effect of peroxide-based bleaching agents on enamel ultimate tensile strength. *Oper Dent*. 2005 May-Jun;30(3):318-24.
8. Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth whitening products. *J Can Dent Assoc*. 2000 Sep;66(8):421-6.
9. Attin T, Kielbassa AM, Schwanenberg M, Hellwig E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehabil*. 1997 Apr;24(4):282-6.
10. Attin T, Kocabiyik M, Buchalla W, Hannig C, Becker K. Susceptibility of enamel surfaces to demineralization after

- application of fluoridated carbamide peroxide gels. *Caries Res.* 2003 Mar-Apr;37(2):93-9.
11. Lewinstein I, Fuhrer N, Churaru N, Cardash H. Effect of different peroxide bleaching regimens and subsequent fluoridation on the hardness of human enamel and dentin. *J Prosthet Dent.* 2004 Oct;92(4):337-42.
  12. Giannini M, Silva AP, Cavalli V, Leme AF. Effect of carbamide peroxide-based bleaching agents containing fluoride or calcium on tensile strength of human enamel. *J Appl Oral Sci.* 2006 Apr;14(2):82-7.
  13. Wiegand A, Schreier M, Attin T. Effect of different fluoridation regimes on the microhardness of bleached enamel. *Oper Dent.* 2007 Nov-Dec.;32(6):610-5.
  14. Costa JB, Mazur RF. Effects of new formulas of bleaching gel and fluoride application on enamel microhardness: an in vitro study. *Oper Dent.* 2007 Nov-Dec.;32(6):589-94.
  15. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A. Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res.* 1999 Dec;78(12):1821-8.
  16. Hannig M, Fiebiger M, Guntzer M, Döbert A, Zimehl R, Nekrashevych Y. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol.* 2004 Nov;49(11):903-10.
  17. Cheung A, Zid Z, Hunt D, McIntyre J. The potential for dental plaque to protect against erosion using an in vivo-in vitro model - a pilot study. *Aust Dent J.* 2005 Dec;50(4):228-34.
  18. Hara AT, Ando M, González-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT. Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *J Dent Res.* 2006 Jul;85(7):612-6.
  19. Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhaes AC, Sener B, Attin T. Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta Odontol Scand.* 2008 Aug;66(4):225-30.
  20. DeWald JP. The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: a review of infection control considerations. *Dent Mater.* 1997 Mar;13(2):74-81.
  21. Pinto CF, Paes Leme AF, Cavalli V, Giannini M. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching on sound and artificial enamel carious lesions. *Braz Dent J.* 2009 Jan-Mar;20(1):48-53.
  22. Pinto CF, Cavalli V, Humel MMC, Silva CE, Dias HGV, Paes Leme AF, et al. Efeito da irradiação dos agentes clareadores no esmalte dental com lesão de cárie. *Rev Bras Odontol.* 2009 Jul-Dez;66(2):270-5.
  23. Berger SB, Cavalli V, Ambrosano GMB, Giannini M. Surface morphology and mineralization level changes in human enamel following light-irradiated in-office 35% hydrogen peroxide bleaching. *Gen Dent.* 2010 Mar-Apr;58(2):e74-9
  24. Shinkai RS, Cury AA, Cury JA. In vitro evaluation of secondary caries development in enamel and root dentin around luted metallic restoration. *Oper Dent.* 2001 Jan-Feb;26(1):52-9.
  25. Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of bleaching on enamel susceptibility to acid erosion and demineralization. *Br Dent J.* 2005 Mar;198(5):285-90
  26. Lee CQ, Cobb CM, Zargartalebi F, Hu N. Effect of bleaching on microhardness, morphology, and color of enamel. *Gen Dent.* 1995 Mar-Apr;43(2):158-60
  27. McGuckin RS, Babin MSC, Meyer B. Alterations in human enamel surface morphology following vital bleaching. *J Prosthet Dent.* 1992 Nov;68(5):754-60.
  28. Andrew J. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent.* 2006 Aug;34(7):412-9.
  29. Andrew J. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. *J Dent.* 2007 Dec;35(12):889-96.
  30. Attin T, Vollmer D, Wiegand A, Attin R, Betke H. Subsurface microhardness of enamel and dentine after different external bleaching procedures. *Am J Dent.* 2005 Feb;18(1):8-12.
  31. Efeoglu N, Wood DJ, Efeoglu C. Thirty-five percent carbamide peroxide application causes in vitro demineralization of enamel. *Dent Mater.* 2007 Jul;23(7):900-4.

Recebido: 31/03/2010

Aceito: 06/01/2011

Correspondência:

Prof. Dr. Marcelo Giannini

Endereço: Av. Limeira, 901

Aréio

CEP 13414-018

Piracicaba/SP Brasil,

e-mail: giannini@fop.unicamp.br