



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



PRISCILLA CHAVES BANDEIRA VERÍSSIMO DE SOUZA

**USO DE FLUORETOS COMO AGENTES PARA REDUÇÃO DE MANCHAMENTO  
E RUGOSIDADE DENTÁRIOS CAUSADOS PELO VINHO TINTO**

Recife  
2021

PRISCILLA CHAVES BANDEIRA VERÍSSIMO DE SOUZA

**USO DE FLUORETOS COMO AGENTES PARA REDUÇÃO DE MANCHAMENTO  
E RUGOSIDADE DENTÁRIOS CAUSADOS PELO VINHO TINTO**

Dissertação apresentada ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

**Área de concentração:** Clínica Integrada

**Orientador:** Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Daene Patrícia Tenório Salvador da Costa

Recife

2021



PRISCILLA CHAVES BANDEIRA VERÍSSIMO DE SOUZA

USO DE FLUORETOS COMO AGENTES PARA REDUÇÃO DE MANCHAMENTO E  
RUGOSIDADE DENTÁRIOS CAUSADOS PELO VINHO TINTO

Dissertação apresentada ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

**Área de concentração:** Clínica Integrada

Aprovado em: 22/02/2021

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy

UFPE – Departamento de Patologia

---

Prof. Dr. Claudio Heliomar Vicente da Silva

UFPE – Departamento de Prótese e Cirurgia Buco Facial

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Vanda Sanderana Macêdo Carneiro

UPE – Faculdade de Odontologia de Pernambuco

Dedico este trabalho à minha família, ao meu namorado, e aos meus amigos,  
que me ajudaram em cada passo.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por tudo de bom que me aconteceu durante minha vida inteira, incluindo a acadêmica. Eu não sabia que iria fazer um mestrado, muito menos ser aprovada em um doutorado. Foram surpresas ótimas.

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco, pela oportunidade e pelo que pude crescer durante 5 anos de graduação, 2 anos de mestrado, e espero que mais 4 de doutorado.

Ao curso de Odontologia da UFPE, à Pós-Graduação de Odontologia da UFPE e aos professores, por todo o conhecimento e experiência que puderam me passar durante este período.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Anderson Stevens Leonidas Gomes e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daene Patrícia Tenório Salvador da Costa, meus agradecimentos por toda a paciência e ajuda que puderam me dar.

Agradeço à Cecília Cruz por corrigir meu trabalho com todo carinho e cuidado, mesmo tendo um bebê em casa, e à Heloisa e Bruna que ajudaram durante todo o experimento.

Agradeço imensamente à minha mãe, Zélia Maria Ferreira Chaves, por todos os esforços para que eu pudesse ter a melhor educação, desde sempre. Minha mãe sempre foi guerreira.

Agradeço ao meu pai, Milson José Silva de Souza, por toda a ajuda que sempre me deu, por estar sempre ao meu lado.

Aos meus irmãos, especialmente à Patrícia Chaves Bandeira Veríssimo de Souza, agradeço por sempre me auxiliar em tudo o que precisei durante toda minha vida.

Ao meu cunhado, Lucas D'almeida Lins, agradeço pelo incentivo durante minha graduação e mestrado.

Agradeço ao meu namorado, Alysson de Azevedo Santiago, por toda paciência e ajuda, principalmente nos momentos estressantes (foram muitos).

Agradeço à minha tia, Mirtes Maria de Souza Rodrigues, pois, sem ela, minha graduação e mestrado não teriam se completado.

Aos meus sogros, Ana Paula Lima de Azevedo Santiago e Edilson Lima Santiago, por sempre me apoiarem.

Aos meus filhos pets por sempre estarem comigo e cuidando de mim.

Agradeço aos meus amigos, especialmente a Letícia Melo e Reydson Alcides, que leram meu trabalho, corrigiram e ajudaram nas apresentações.

Agradeço também aos meus colegas de turma, por todas as experiências que tivemos juntos.

*“O passado pode doer, mas do jeito que eu vejo, você pode fugir dele ou aprender com ele.” (O REI LEÃO, 1994)*

## RESUMO

O manchamento dentário pode ocorrer por uma diversidade de substâncias endógenas e exógenas, como o vinho tinto, amplamente consumido. Além disso, a acidez do vinho pode levar à erosão dentária, existindo uma relação direta entre a coloração e a rugosidade superficial. Este estudo avaliou a eficácia do uso de agentes fluoretados com diferentes formas de apresentação e concentrações de flúor na redução de rugosidade e manchas dentárias causados pelo vinho tinto. Um total de 130 incisivos bovinos foram selecionados e divididos em 7 grupos (G1: saliva artificial; G2: vinho sem agente preventivo; G3: Colgate® Total 12® Professional Daily Repair; G4: Colgate® Sensitive Pro-Relief; G5: Colgate® Orthogard®; G6: Colgate® Plax® Soft Mint; G7: Flutop Flúor em Gel Neutro® SS White), cada um deles com 2 subgrupos (n=10), SP sendo submetido ao vinho por 60 minutos consecutivos por dia (simulando degustadores profissionais de vinho), e SC submetido ao vinho por 30 minutos por dia, dividido em 3x, com intervalo de 5 minutos (simulando consumidores de vinho). As análises de cor e rugosidade foram realizadas antes e após 30 dias do início da exposição aos agentes. Após testes estatísticos, descritivos e inferenciais (Tukey pós anova, Dunn pós Kruskal Wallis e Wilcoxon Mann Whitney), foi observada diferença significativa entre os grupos G1 e G2 ( $p=0$ ), sendo que o contato com o vinho causou manchas e rugosidade nos dentes, independentemente da forma de exposição. Em SP, observou-se que os grupos que não foram submetidos à escovação (G6SP e G7SP) apresentaram maior variação de cor quando comparados aos demais grupos. Na comparação de SC, foi observada diferença significativa entre G2xG7, G3xG7, G5xG6 and G5xG7. Quanto à rugosidade, em SP, a comparação G2SP com G7SP teve significância estatística, e em SC, as diferenças foram melhor observadas entre G2SCxG6SC e G4SCxG6SC. Concluiu-se que a concentração de flúor não reduz a pigmentação dentária causada pelo contato com o vinho tinto, porém parece minimizar a rugosidade. Observou-se ainda que os fluoretos associados à escovação com componentes abrasivos obtiveram valores menores de coloração dentária com a metodologia utilizada.

Palavras-chave: manchamento; esmalte dentário; fluoretos; vinho tinto.

## ABSTRACT

Teeth stain can occur from a diversity of endogenous or exogenous substances, such as red wine, which is widely consumed. This study evaluated the efficacy of the use of fluoridated agents with different presentations and fluoride concentrations in the reduction of tooth stains caused by red wine. A total of 130 bovine incisors were selected and divided into 7 groups (G1: artificial saliva; G2: red wine without preventive agent; G3: Colgate® Total 12® Professional Daily Repair; G4: Colgate® Sensitive Pro-Relief; G5: Colgate® Orthogard®; G6: Colgate® Plax® Soft Mint; G7: Flutop Neutral Gel Fluoride® SS White), each of them with 2 subgroups (n=10), SP being continuously submitted to red wine for 60 consecutive minutes per day (to simulate professional wine tasters), and SC submitted to red wine for 30 minutes per day divided into 3x with 5-minute intervals (simulating wine consumers). Color and roughness analyses were performed before and after 30 days of the beginning of exposure to the agents. After descriptive and inferential statistical tests (Tukey- post anova, Dunn- post kruskall-wallis, wilcoxon/ Mann Whitney), a significant difference was observed between groups G1 and G2 ( $p=0$ ), finding that contact with red wine caused tooth stains and roughness, regardless of the form of exposure. In SP, it was observed that the groups that were not submitted to brushing (G6SP and G7SP) presented greater color variation when compared to the other groups. In the comparison of SC, a significant difference was observed between G2xG7, G3xG7, G5xG6 and G5xG7. Regarding roughness, significant differences were found between G1xG2SP and G1xG2SC, confirming the increase in roughness caused by red wine. In SP, the G2SP comparison with G7SP had statistical significance, and in SC, the differences were better observed between G2SCxG6SC and G4SCxG6SC. It was concluded that the fluoride concentration did not reduce tooth pigmentation caused by contact with red wine, but it seems to prevent roughness. However, the fluorides associated with brushing with abrasive components obtained lower values of dental staining from the methodology used.

Keywords: staining; dental enamel; fluorides; red wine.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Escala Vita Clássica e a escala numérica correspondente.....	19
Figura 2 - Linha do tempo do experimento.....	20
Figura 3 - Variação de cor após 30 dias.....	23
Figura 4 - Variação de rugosidade após 30 dias.....	26

### No artigo

Figure 1 - Step-by-step timeline of the methodology used.....	50
Figure 2 - Color variation after 30 days.....	51
Figure 3 - Roughness variation after 30 days .....	51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Distribuição dos grupos experimentais conforme o tipo de exposição ao vinho, produto comercial empregado, apresentação do fluoreto e concentração do fluoreto.....	17
Tabela 2 -	Dados descritivos de variação de cor em 30 dias (T0 x T30) por subgrupo.....	21
Tabela 3 -	Teste estatístico (TUKEY - POST ANOVA) do Subgrupo P no período de 30 dias.....	22
Tabela 4 -	Teste estatístico (TUKEY - POST ANOVA) do Subgrupo C no período de 30 dias.....	23
Tabela 5 -	Dados descritivos de variação de rugosidade em 30 dias por subgrupo.....	24
Tabela 6 -	Teste estatístico (DUNN – POST KRUSKALL-WALLIS) do Subgrupo P no período de 30 dias.....	25
Tabela 7 -	Teste estatístico (DUNN – POST KRUSKALL-WALLIS) do Subgrupo C no período de 30 dias.....	25

### No artigo

Table 1 -	Distribution of experimental groups according to the type of exposure to wine, commercial product employed, fluoride presentation and fluoride concentration .....	47
Table 2 -	Descriptive data of color variation in 30 days per subgroup.....	47
Table 3 -	Statistical test (ANOVA, Tukey post hoc) of SP color variation in the period of 30 days .....	48
Table 4 -	Statistical test (ANOVA, Tukey post hoc) of SC color variation in the period of 30 days .....	48
Table 5 -	Descriptive data of roughness variation in 30 days.....	48
Table 6 -	Statistical test (DUNN – POST HOC KRUSKAL-WALLIS) of SP roughness variation in the period of 30 days .....	49
Table 7 -	Statistical test (DUNN – POST KRUSKALL-WALLIS) of SC roughness variation in the period of 30 days .....	49

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1	GERAL.....	15
2.2	ESPECÍFICOS.....	12
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
3.1	LOCAL DO ESTUDO.....	16
3.2	SELEÇÃO DA AMOSTRA .....	16
3.3	PREPARO DOS CORPOS DE PROVA.....	16
3.4	DIVISÃO DE GRUPOS E EXPOSIÇÃO.....	17
3.5	ANÁLISE DE COLORAÇÃO ATRAVÉS DE ESPECTROFOTÔMETRO DIGITAL.....	18
3.6	AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE DOS CORPOS DE PROVA.....	19
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>21</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>31</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>32</b>
	<b>APÊNDICE A - ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA A AUSTRALIAN DENTAL JOURNAL.....</b>	<b>35</b>
	<b>ANEXO A - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....</b>	<b>52</b>
	<b>ANEXO B - CARTA DE AUTORIZAÇÃO DE DOAÇÃO DOS DENTES BOVINOS.....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O sorriso é uma das mais importantes formas interativas de comunicação para uma pessoa e o cuidado com os dentes inclui evitar doenças, como cáries, bem como a estética. Queixas de coloração dentária são comumente relatadas por pacientes que procuram tratamento estético (CASADO *et al.*, 2018), e podem ser causadas por fatores intrínsecos congênitos como amelogenese imperfeita, uso de tetraciclina, fluorose ou trauma, ou por fatores extrínsecos (WATTS; ADDY, 2001).

A coloração extrínseca geralmente envolve o acúmulo de placas e substâncias alimentares pigmentadas que são frequentemente consumidas. Corantes naturais, como café, chá, vinho tinto, suco de laranja e açaí, ou artificiais como isotônicos ou refrigerantes geralmente causam esse tipo de manchamento (BAZZI *et al.*, 2012).

O consumo moderado de bebidas alcoólicas, incluindo vinhos tintos e brancos, é uma tradição em muitas regiões do mundo, especialmente em regiões produtoras de vinho e países industriais ocidentais. No entanto, observou-se um aumento no seu consumo em outros países devido à facilidade de comercialização (WILLERSHAUSEN *et al.*, 2009).

Em relação ao consumo global de vinho, observa-se um crescimento constante do consumo desde 2014 (241 milhões de hectolitros), que pareceu estabilizar em 2018 com 246 milhões de hectolitros de vinho consumidos no mundo (OIV, 2019).

O pH dos vinhos pode variar de 3,0 a 4,0 e a acidez é bastante prejudicial, pois pode resultar em erosão do tecido dentário duro (GEORGE *et al.*, 2014), que se refere à perda de estrutura dentária por processo de desmineralização (KWEK *et al.*, 2015). Os efeitos a longo prazo da erosão na superfície dentária incluem pigmentação, hipersensibilidade dentinária, exposição da dentina e, em casos mais graves, pulpite irreversível e necrose da polpa (GEORGE *et al.*, 2014). O vinho tinto, além de ser uma bebida ácida, contém uma alta concentração de pigmentos e etanol que poderia intensificar a desmineralização da superfície do esmalte, aumentando a fixação de corantes (BEGER *et al.*, 2008).

A terapia de flúor é frequentemente usada para promover a remineralização dentária. Estudos (TURSSI *et al.*, 2011; STRNAD, BUKA, 2014; CREETH *et al.*, 2020;) mostraram que o tratamento com pastas de dentes contendo flúor contribui para a

proteção do esmalte contra o desgaste da superfície mediada por ácido e promove a restauração da dureza após ataque erosivo.

No entanto, ainda faltam evidências científicas fortes da relação direta entre o uso de fluoretos e suas diferentes concentrações com a prevenção da coloração dentária por bebidas ácidas pigmentadas, como o vinho. Com base nesse fato, há claramente a necessidade de estudos que busquem estabelecer a influência do uso de fluoretos visando a prevenção da desmineralização e coloração dentária pelo vinho.

## 2 OBJETIVOS

Nesta seção serão descritos os objetivos deste estudo.

### 2.1 GERAL

O objetivo deste estudo foi verificar se diferentes formas de apresentação e concentração de fluoretos contribuem para a redução do manchamento e rugosidade dentários decorrentes da exposição ao vinho tinto.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- I. Avaliar se o contato do vinho tinto com o esmalte dentário provoca, a longo prazo, aumento da rugosidade superficial e do manchamento dentário;
- II. Investigar se o tempo e intervalo de exposição ao vinho modificam a resposta de rugosidade e manchamento das superfícies dentárias;
- III. Avaliar o comportamento dos fluoretos diante de diferentes formas de ingestão da bebida (degustadores profissionais e consumidores) na rugosidade superficial e manchamento dos espécimes dentários;
- IV. Avaliar comparativamente se as diferentes concentrações de fluoretos reduzem o manchamento e a rugosidade dentária causados pelo vinho tinto.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção serão descritos os materiais e métodos deste estudo.

#### 3.1 LOCAL DO ESTUDO

Este estudo foi realizado no Laboratório de Biomateriais do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco Facial e no Laboratório de Fotônica e Biofotônica do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) no processo nº 101/2019.

#### 3.2 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Cento e trinta incisivos bovinos com integridade coronária (ausência de facetas de desgaste ou alterações patológicas no esmalte) foram obtidos de um matadouro local e armazenados em saliva artificial (Farmácia Roval) até o início do estudo.

#### 3.3 PREPARO DOS CORPOS DE PROVA

Manchas extrínsecas e depósitos orgânicos dentários foram removidos com curetas periodontais e profilaxia com pedra pomes e água com o auxílio da escova de Robinson. As raízes foram cortadas em seu terço cervical com disco de diamante de dupla lateral KG Sorensen® – Medical Burs (Cotia, São Paulo, Brasil) para remoção total de tecido pulpar e, em seguida, desinfetada em solução de timol de 0,1% por 24 horas (YILMAZ; KOLDEHOFF; SCHNEIDER, 2018).

As extremidades radiculares foram isoladas com cera de utilidade e toda a raiz e estrutura coronária, com exceção do terço médio da face vestibular, foi isolada com cinco camadas de Super Bonder® Loctite em gel (São Paulo, Brasil), de modo que nem o vinho nem as soluções fluoretadas penetrassem por uma região diferente da face vestibular.

### 3.4 DIVISÃO DE GRUPOS E EXPOSIÇÃO

Os dentes foram divididos em 7 grupos, cada um deles com 2 subgrupos (exceto o grupo de controle negativo, n=10), de acordo com a Tabela 1, sendo o subgrupo P (SP) uma simulação de degustadores profissionais de vinho e o subgrupo C (SC), por sua vez, uma simulação de consumidores de vinho. O experimento foi realizado durante 30 dias consecutivos.

Tabela 1 – Distribuição dos grupos experimentais conforme o tipo de exposição ao vinho, produto comercial empregado, apresentação do fluoreto e concentração do fluoreto

<b>Grupo</b>	<b>Exposição ao Vinho</b>	<b>Nome comercial</b>	<b>Apresentação do Fluoreto</b>	<b>Concentração do Fluoreto</b>
<b>G1</b>	Não	----	----	Controle negativo
<b>G2</b>	Sim	----	----	Controle positivo
<b>G3</b>	Sim	Colgate® Total 12® Professional Daily Repair	Creme dental	1.450 ppm
<b>G4</b>	Sim	Colgate® Sensitive Pro-Relief	Creme dental para sensibilidade	1.450 ppm
<b>G5</b>	Sim	Colgate® Orthogard®	Gel dental com alta concentração de flúor	5.000 ppm
<b>G6</b>	Sim	Colgate® Plax® Soft Mint	Enxaguante bucal	500 ppm
<b>G7</b>	Sim	SS White Flutop®	Flúor em gel neutro	20.000 ppm (2%)

Fonte: A autora (2021)

SP foi imerso em vinho por 60 minutos consecutivos todos os dias, enquanto SC foi imerso em vinho por 30 minutos em dias alternados, sendo esses 30 minutos divididos em 3 vezes de 10 minutos, com um intervalo de 5 minutos entre eles e em imersão em saliva artificial (SWAMY et al., 2018; ZANATTA et al., 2018).

A exposição a agentes fluoretados ocorreu duas vezes por dia durante 1 minuto a uma temperatura de 25°C, com intervalo de 12 horas. Após 30 minutos da segunda exposição a agentes protetores, os dentes foram imersos no vinho tinto seco Cabernet Sauvignon, pH 3.6, 10,5% Álcool (Adega do Vale, Rio Sol, Pernambuco), pelo tempo atribuído a cada subgrupo.

Os dentes dos grupos G3, G4 e G5 foram submetidos à mesma técnica de escovação com escova rotatória com detector de pressão Oral B® Professional Care Triumph 5000 (Queimados, Rio de Janeiro, Brasil) por 5 segundos, permanecendo em contato com o agente fluoretado por 1 minuto. Uma porção de 0,4 g de todas as cremes dentais, comparável a um grão de ervilha, foi utilizada em todas as escovações (ARAUJO *et al.*, 2011). Em seguida, os espécimes foram lavados com água mineral corrente e armazenados em imersão em saliva artificial nos intervalos entre as exposições.

O grupo G6 ficou imerso no enxaguante bucal Plax® Soft Mint por 1 minuto, sem sofrer posterior enxágue com água. No Grupo G7, o gel de flúor SS White Flutop® (Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) foi colocado na superfície do esmalte e aguardou-se um tempo de 1 minuto, sendo em seguida removido com o auxílio de gaze, conforme recomendado pelos fabricantes.

### 3.5 ANÁLISE DE COLORAÇÃO ATRAVÉS DE ESPECTROFOTÔMETRO DIGITAL

A análise de coloração foi realizada utilizando-se um espectrofotômetro digital portátil EasyShade® Vita-Zahnfabrik, (Bad Sackingen, Baden-Württemberg, Alemanha), posicionado no terço médio da face vestibular dos espécimes, na região anteriormente delimitada. A medição quantitativa deste dispositivo é compatível com as escalas Vita Clássico e Vita 3D-Master, facilitando a seleção e comparação de cores. Os valores colorimétricos foram obtidos por meio de leituras obtendo os espaços de cores através do sistema CIELab em que  $L^*$  representa a luminosidade,  $a^*$  e  $b^*$  o matiz, estabelecido pela Comissão Internationale de l'Eclairage – CIE. (CHEN *et al.*, 2020).

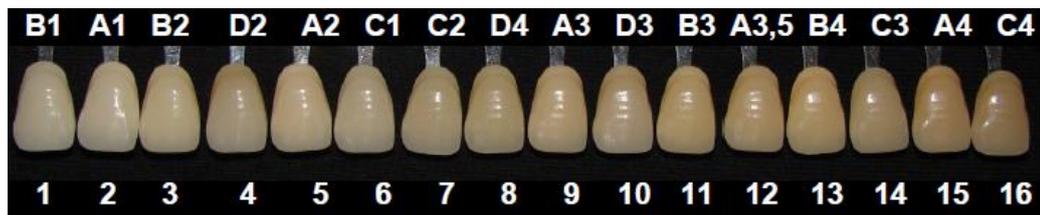
O CIELab permite a especificação de percepções de cores em termos de um espaço tridimensional, através do comprimento de onda versus reflexão. A axial “L” é conhecida como luminosidade e se estende de 0 (preto) a 100 (branco perfeito). A coordenada “a” representa a quantidade de vermelho (valores positivos) e de verde (valores negativos), enquanto a coordenada “b” representa a quantidade de amarelo (valores positivos) e de azul (valores negativos). As coordenadas “a” e “b” coexistem no mesmo plano dentro deste espaço tridimensional (16).

O registro de cor foi realizado em dois momentos: antes do início da exposição (T0) e ao final de 30 dias (T30). Para medir as diferenças de cor ( $\Delta E$ ) apresentadas

pelo manchamento, foi necessário utilizar a fórmula  $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$  preconizada pelo método CIE, onde  $\Delta L$ ,  $\Delta a$  e  $\Delta b$  foram calculados a partir das leituras finais menos as leituras iniciais.

Os valores obtidos com o espectrofotômetro, baseados na escala VITA™ Clássica também foram convertidos para uma escala numérica para análise estatística dos dados, conforme a Figura 1.

Figura 1 – Escala Vita Clássica e a escala numérica correspondente



Fonte: Costa (2021)

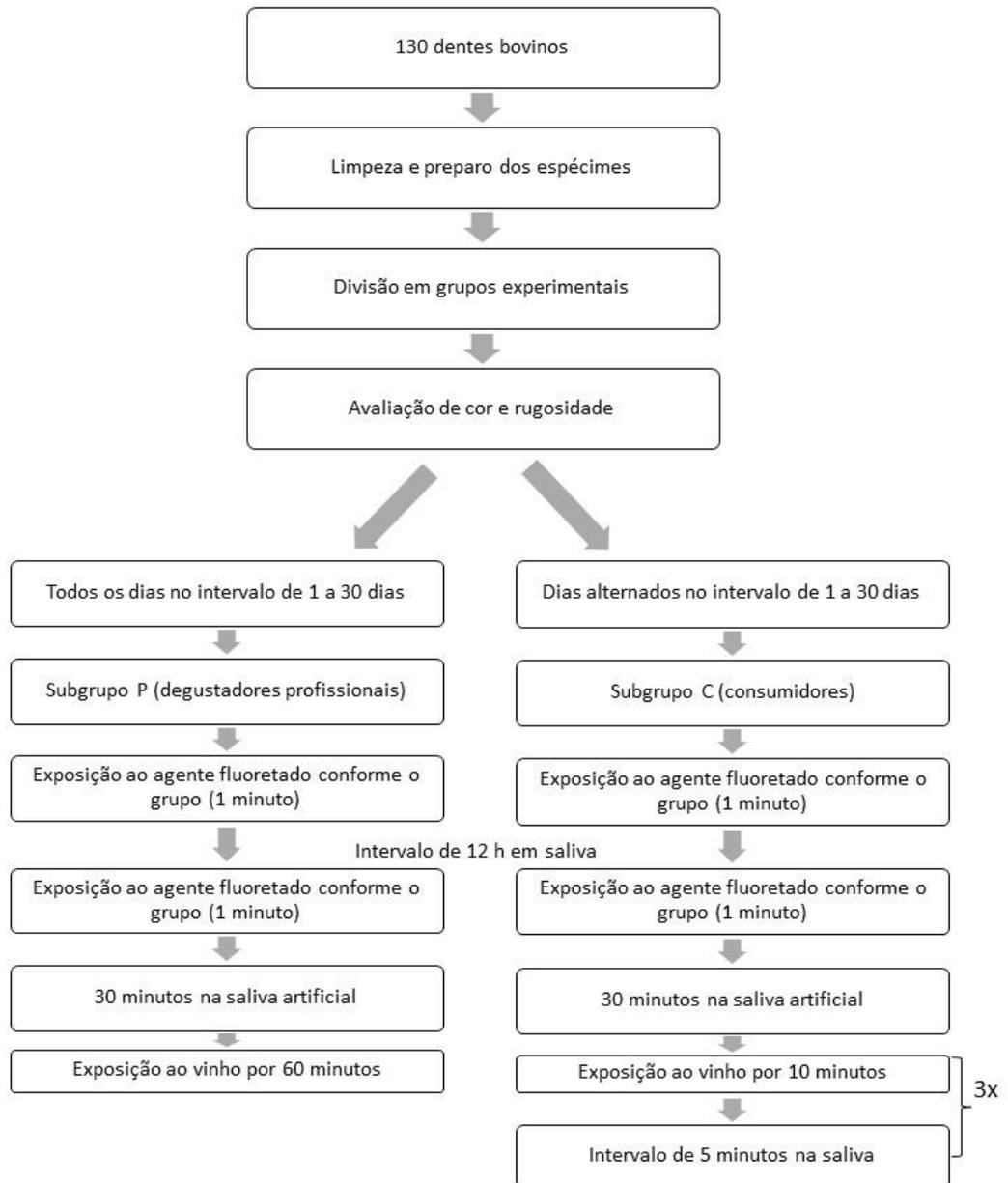
### 3.6 AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE DOS CORPOS DE PROVA

A rugosimetria foi realizada antes do início da exposição aos agentes (T0) e após 30 dias de exposição (T30). A rugosidade média da superfície (Ra) foi medida (lm) usando um perfil de contato (SURFTEST SJ 310, Mitutoyo Corp, Kanagawa, Japão). Cada espécime foi posicionado sobre uma placa de vidro e fixado, com massa de modelagem, com a face vestibular para cima. Foram realizadas 6 medições sucessivas na direção vertical (sentido cervico-incisal) de cada amostra, a uma velocidade de 0,5 mm/s com ponto de corte de 0,25 mm e comprimento de traço de 5,0 mm. A unidade de medição do rugosímetro é a Ra, que corresponde à média aritmética dos valores absolutos do ordenado (X, Y) das distâncias dos pontos do perfil de rugosidade, em relação à linha média.

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A partir dos dados obtidos, testes estatísticos descritivos e inferenciais (Tukey - Post Anova, Dunn – Post Kruskall-Wallis e Wilcoxon / Mann Whitney) foram realizados a um nível de significância de 5% para interpretação dos resultados da coloração dentária.

Figura 2 – Linha do tempo do experimento



Fonte: A autora (2021)

## 4 RESULTADOS

Uma análise descritiva da variação de cor em cada subgrupo é apresentada na Tabela 2, no intervalo de 0 a 30 dias.

Comparando-se o controle negativo (G1) com o controle positivo (G2SP e G2SC), observou-se diferença significativa entre seus valores médios, com a menor variação de cor observada no G1, o que também pôde ser confirmado com a análise de Wilcoxon/Mann Whitney que demonstrou  $p=0$  em ambas as comparações entre G1xG2S1 e G1xG2S2, confirmando a alteração na coloração provocada pela exposição dentária ao vinho tinto.

Observou-se também que o valor médio das variações de cor em todos os Subgrupos P foi maior quando comparado aos Subgrupos C correspondentes, indicando que a forma de exposição refletiu em diferentes padrões de manchamento dentário.

Tabela 2 - Dados descritivos de variação de cor em 30 dias (T0 x T30) por subgrupo

<b>T0 x T30</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>G1</b>	9.015	5.176
<b>G2SP</b>	52.369	7.920
<b>G2SC</b>	37.204	9.479
<b>G3SP</b>	47.893	6.415
<b>G3SC</b>	36.176	4.519
<b>G4SP</b>	52.859	7.840
<b>G4SC</b>	39.496	10.867
<b>G5SP</b>	54.696	7.783
<b>G5SC</b>	34.321	5.833
<b>G6SP</b>	63.964	8.066
<b>G6SC</b>	43.866	4.586
<b>G7SP</b>	58.540	8.760
<b>G7SC</b>	48.367	5.078

Fonte: A autora (2021)

A Tabela 3 mostra o valor p obtido com a comparação entre os grupos do subgrupo P no momento T0xT30, utilizando o teste estatístico Tukey - Post ANOVA. Verificou-se que não houve diferença significativa ( $p>0.05$ ) entre o grupo controle e os grupos experimentais, exceto para o grupo que utilizou o Colgate Plax Soft Mint® (G6), que apresentou mais manchas dentárias que G2, G3 e G4. Possivelmente, por

não ser realizada a lavagem em água após a exposição, o enxaguante bucal pode ter formado uma película sobre os dentes, aumentando a adesão do pigmento. Além disso, o enxaguante não consiste em solução incolor, sendo assim sua pigmentação em tom de azul, pode ter interferido no resultado. Vale ressaltar também que o G7 (SS White Flutop<sup>®</sup>) apresentou maior variação de cor do que o G3 (Colgate<sup>®</sup> Total 12<sup>®</sup> Reparo Diário Profissional).

Tabela 3: Teste estatístico (TUKEY - POST ANOVA) do Subgrupo P no período de 30 dias

T0 x T30	G2	G3	G4	G5	G6	G7
G2		p=0.7953	p=1.000	p=0.985	p= <b>0.021</b>	p=0.498
G3			p=0.716	p=0.388	p= <b>0.001</b>	p= <b>0.040</b>
G4				p=0.995	p= <b>0.030</b>	p=0.588
G5					p=0.108	p=0.880
G6						p=0.646

Fonte: A autora (2021)

Os dados obtidos comparando os Subgrupos C nos momentos T0 x T30, através do teste estatístico de Tukey - Pós Anova são mostrados na Tabela 4, com o valor p. Segundo os dados, não houve diferença estatística entre o controle positivo (G2) e os demais grupos, exceto o G7, que apresentou maior coloração dentária ( $p < 0,05$ ) em relação ao G2, G3 e G5. Também foi observada diferença significativa entre G5 e G6, com G6 apresentando maior coloração. Provavelmente, os grupos G6 (enxaguante bucal) e G7 (flúor em gel), tiveram mais alteração na coloração pela falta de enxague (formando película adquirida viabilizando maior retenção pigmentos) e pela falta da escovação, responsável pela remoção mecânica de pigmentos superficiais.

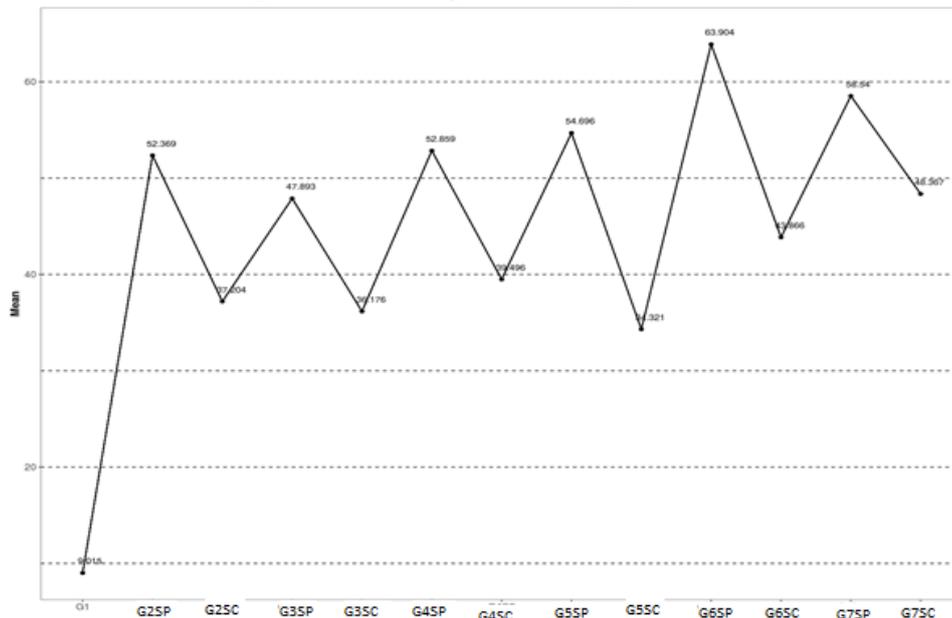
Tabela 4: Teste estatístico (TUKEY - POST ANOVA) do Subgrupo C no período de 30 dias

T0 x T30	G2	G3	G4	G5	G6	G7
G2		p=1.000	p=0.980	p=0.945	p=0.315	p= <b>0.012</b>
G3			p=0.904	p=0.992	p=0.176	p= <b>0.005</b>
G4				p=0.594	p=0.750	p=0.079
G5					p= <b>0.048</b>	p= <b>0.001</b>
G6						p=0.726

Fonte: A autora (2021)

A Figura 3 mostra a distribuição da variação de cor após os 30 dias de experimento. Em todos os grupos, houve aumento do tom de cor, com exceção do controle negativo (G1). Vale ressaltar que todos os grupos do Subgrupo P apresentaram maiores alterações de cor em relação ao grupo correspondente do Subgrupo C, corroborando os dados apresentados na Tabela 2. Além disso, observou-se que o grupo G6SP obteve a maior mudança de cor, enquanto a menor variação de cor foi observada no G5SC.

Figura 3 - Variação de cor após 30 dias



Fonte: A autora (2021)

Uma análise descritiva da variação de rugosidade em cada subgrupo está apresentada na Tabela 5, na faixa de 0 a 30 dias.

Novamente, ao comparar o controle negativo (G1) com os controles positivos (G2SP e G2SC), houve diferença entre os valores médios, onde G1 teve uma menor variação na rugosidade, o que também pode ser observado com a análise de Wilcoxon/Mann Whitney que demonstrou  $p=0$  em ambas as comparações entre G1xG2SP e G1xG2SC, confirmando o aumento da rugosidade causada pelo vinho tinto.

Tabela 5 - Dados descritivos de variação de rugosidade em 30 dias por subgrupo

<b>Group</b>	<b>T0</b>	<b>T30</b>	<b>Média</b>	<b>SD</b>	<b>P-valor</b>
<b>Média Rugosidade Superficial</b>					
<b>G1</b>	0.608	0.607	-0.001	0.011	0.500
<b>G2SP</b>	0.641	0.884	0.242	0.103	<b>0.001</b>
<b>G2SC</b>	0.855	1.140	0.288	0.250	<b>0.001</b>
<b>G3SP</b>	0.807	0.937	0.167	0.182	<b>0.007</b>
<b>G3SC</b>	0.579	0.731	0.152	0.097	<b>0.001</b>
<b>G4SP</b>	0.738	0.893	0.155	0.048	<b>0.001</b>
<b>G4SC</b>	0.804	1.090	0.290	0.245	<b>0.001</b>
<b>G5SP</b>	0.765	0.910	0.146	0.110	<b>0.005</b>
<b>G5SC</b>	0.586	0.752	0.166	0.086	<b>0.001</b>
<b>G6SP</b>	0.627	0.811	0.183	0.272	<b>0.019</b>
<b>G6SC</b>	0.661	0.689	0.028	0.094	0.278
<b>G7SP</b>	0.826	0.876	0.049	0.089	0.080
<b>G7SC</b>	0.681	0.805	0.124	0.164	<b>0.005</b>

Fonte: A autora (2021)

A Tabela 6 mostra o valor p obtido na comparação entre os grupos de Subgrupos P, no momento T0 x T30, utilizando Teste de Dunn (Post Kruskall-Wallis). A única diferença estatisticamente confirmada (valor  $p < 0,05$ ) foi na comparação entre o grupo controle G2SP e o grupo que utilizou o flúor neutro SS White Flutop® (G7SP), com o G7SP tendo menor variação de rugosidade ( $p=0.002$ ).

Tabela 6 - Teste estatístico (DUNN – POST KRUSKALL-WALLIS) do Subgrupo P no período de 30 dias

T0 x T30	G2	G3	G4	G5	G6	G7
<b>G2</b>		p=0.260	p=0.404	p=0.450	p=0.480	<b>p=0.002</b>
<b>G3</b>			p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=0.520
<b>G4</b>				p=0.500	p=1.000	p=0.292
<b>G5</b>					p=0.980	p=0.280
<b>G6</b>						p=0.280

Fonte: A autora (2021)

Comparando os dados obtidos dos subgrupos C no momento T0 x T30, também pelo Teste de Dunn - Post Kruskall-Wallis, a partir do valor p obtido, pode-se observar uma diferença estatisticamente relevante entre os grupos G2SCxG6SC e G4SCxG6SC. Em ambos os casos, o G6SC (Colgate mouthwash® Plax® Soft Mint) apresentou menor aumento de rugosidade ( $p < 0.05$ ) (Tabela 7).

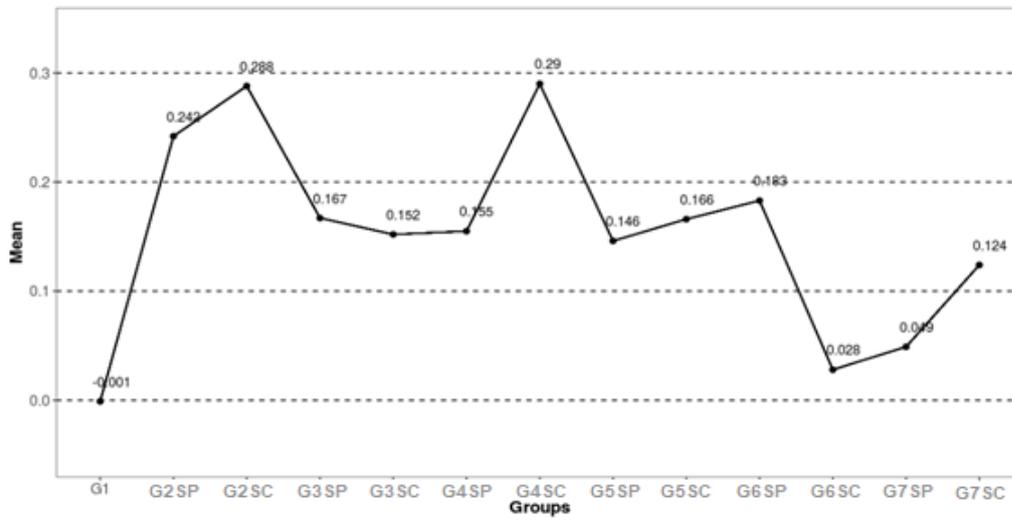
Tabela 7 - Teste estatístico (DUNN – POST KRUSKALL-WALLIS) do Subgrupo C no período de 30 dias

T0 x T30	G2	G3	G4	G5	G6	G7
<b>G2</b>		p=0.750	p=0.464	p=0.552	<b>p=0.004</b>	p=0.152
<b>G3</b>			p=0.716	p=0.818	p=0.160	p=0.570
<b>G4</b>				p=0.717	<b>p=0.003</b>	p=0.131
<b>G5</b>					p=0.112	p=0.663
<b>G6</b>						p=0.717

Fonte: A autora (2021)

A Figura 4 mostra um gráfico de variação de rugosidade da média dos grupos. Com exceção do G1 (controle negativo), todos os grupos apresentaram aumento da rugosidade.

Figura 4 - Variação de rugosidade após 30 dias



Fonte: A autora (2021)

## 5 DISCUSSÃO

Sabe-se que alguns fatores relacionados ao consumo de bebidas ácidas, como o consumo de café e chá, estão entre os principais fatores que podem levar à pigmentação extrínseca no esmalte dentário, mais precisamente no biofilme adquirido ou áreas com dissolução do esmalte (AZER; HANGUE; JOHNSTON, 2011; BAZZI *et al.*, 2012). O vinho tinto, além de ser uma bebida ácida, contém uma alta quantidade de pigmentos e etanol que poderia induzir vulnerabilidade às manchas (BEGER *et al.*, 2008). No entanto, ainda não há estudos, pelo que sabemos, que associam diretamente o uso de fluoretos como agente preventivo na coloração dentária pelo vinho.

O uso de dentes bovinos nos estudos é uma opção muitas vezes considerada por serem facilmente adquiridas e cada vez mais indicadas pelos comitês de ética (BAZZI *et al.*, 2012). Os incisivos são frequentemente selecionados, uma vez que são encontrados saudáveis, em grandes quantidades, e têm uma superfície larga, geralmente livre de defeitos e lesões cáries quando comparados com outros dentes (YASSEN; PLATT; HARA, 2011). Além disso, os dentes bovinos também possuem áreas planas maiores que podem acomodar a ponta da peça de mão espectrômetro e não diferem significativamente dos dentes humanos em termos de cor de linha de base. (BAZZI *et al.*, 2012). No entanto, os dentes bovinos têm uma textura de superfície muito áspera, ao contrário dos dentes humanos, e, por serem dentes extraídos, não estão sujeitos à pressão e hidratação da polpa, o que pode causar alguma diferença quando comparado com a coloração e rugosidade causadas pelo vinho em ensaios clínicos.

Neste estudo, foi analisado o uso de três apresentações diferentes e quatro concentrações de flúor em dentes bovinos, a fim de identificar se houve eficácia para reduzir a coloração e a rugosidade da exposição ao vinho tinto da uva Cabernet Sauvignon, no período de exposição de 30 dias. Os resultados revelaram uma diferença estatisticamente significativa entre algumas das diferentes apresentações e concentrações de flúor.

Após análise dos testes estatísticos, representados na Tabela 2, Figuras 3 e 4 e Tabela 5, comparando G1 com grupos de controle positivo (G2SP e G2SC), a exposição ao vinho pode causar manchas e rugosidade dentárias. No entanto, o contato contínuo com o vinho (SP) causa maior pigmentação dentária quando

comparado ao contato intermitente ou casual (SC), indicando que a forma de exposição refletida em diferentes padrões de coloração dentária.

Sugere-se que a coloração dentária é derivada de compostos polifenólicos que fornecem cor em alimentos e bebidas. Esses cromóforos orgânicos são absorvidos pelo biofilme adquirido e emitem a cor natural, resultando em coloração dentária. (AZER; HAGUE; JOHNSTON, 2011). Algumas manchas extrínsecas podem ser removidas parcial ou completamente escovando com pasta de dente (BAZZI *et al.*, 2012). Além disso, a saliva artificial foi utilizada neste estudo para armazenar dentes, e segundo Turgut *et al.* (2018), a deposição de pigmento e o conseqüente acúmulo de saliva artificial atuam como matriz, o que pode resultar em coloração. Observou-se que os dentes que não foram lavados após a exposição a agentes protetores tendiam a ter manchas maiores, o que pode estar relacionado a um filme adquirido formado por enxaguante bucal e gel de flúor que também ajudou a reter mais pigmento, o que pode justificar os resultados obtidos em G6SP e G7SC.

Observou-se que a associação da escovação com o uso de pastas de dentes fluoretadas contribui para redução do filme adquirido na superfície dentária, conseqüentemente reduzindo e removendo manchas extrínsecas. Os grupos submetidos à escovação (G3, G4 e G5) não apresentaram diferença significativa entre eles (apesar da diferença nas concentrações de flúor), mas apresentaram menor variação de cor quando comparados a grupos que não foram escovados, em subgrupos de degustadores profissionais ou subgrupos de consumo. O resultado está de acordo com Haruyama *et al.* (2018), que demonstraram, em seu estudo *in vitro* que a combinação do uso de pastas de dentes fluoretadas e escovação elétrica remove a coloração artificial de forma mais eficaz do que a escovação elétrica sem pasta de dente. O uso de uma pasta de dente clareadora contendo pirofosfato de sódio e uma pasta de dente comum contendo flúor, ambos contendo sílica anidro como abrasiva, foram comparados. Concluíram que o componente abrasivo é o que ajuda na remoção de manchas extrínsecas, ao lado da escovação.

Ainda considerando o efeito das partículas abrasivas, Meyers *et al.* (2000) avaliaram alterações na estrutura da superfície dentária e no tecido gengival durante a escovação com pastas de dentes contendo substâncias abrasivas em comparação com a água. Eles descobriram que a superfície do esmalte permaneceu inalterada em grupos que realizaram escovação de pasta de dente. A superfície de esmalte do grupo

que recebia escovação apenas com água era coberta com uma camada amorfa sugestiva de filme, que muitas vezes escurecia a morfologia subjacente do esmalte.

Neste estudo, independentemente da concentração, não foi observada eficácia do flúor como agente preventivo para coloração dentária. Não houve diferença estatística na variação de cor entre as concentrações de flúor ao isolar a comparação entre os 3 grupos submetidos à escovação com pastas de dentes contendo partículas abrasivas (G3 x G4 x G5) ou ao isolar os 2 grupos que não foram expostos à escovação mecânica (G6 x G7). Ao comparar o grupo controle (G2) e os experimentais, exceto que quando o flúor não estava associado à escovação (G6 e G7), foram observadas maiores alterações de cor. Embora a maior concentração de fluoretos tenha sido no G7, houve diferença estatística entre G3SP x G7SP, G2SC x G7SC, G3SC x G7S2C e G5SC x G7SC para coloração dentária. Essa diferença ocorreu possivelmente porque o dente não foi lavado após a exposição, o enxaguante bucal e o gel de flúor formaram uma película nos dentes que aumentou o adesivo do pigmento. Além disso, o enxaguante bucal tem uma cor ligeiramente azulada, o que pode ter interferido. Como Monteiro et al. (2019), que demonstraram que o gel de flúor tem um efeito significativo na redução da rugosidade do esmalte dentário, mas não diminui a coloração dentária. Provavelmente, G6 (enxaguante bucal) e G7 (flúor de gel) não apresentaram bons resultados devido à falta de enxágue (formação de filme adquirido, retenção de mais pigmento) e à falta de escovação, o que ajuda na remoção de pigmentos superficiais.

Há uma relação direta entre a mudança na cor do dente e a rugosidade superficial, devido à textura da superfície do esmalte, associada à dispersão de luz e retenção de pigmentos. Superfícies mais ásperas modificam a absorção e a dispersão da luz de forma difusa, ao contrário das superfícies mais suaves, onde há o reflexo especular da luz (ROSELINO; TIRAPELLI; SOUZA, 2018). No entanto, essa associação direta não foi encontrada neste estudo. Especulamos que o G6 tinha mais manchas porque não foi escovado, formou um filme e adsorveu mais pigmento. A falta de escovação também pode ter sido responsável por não aumentar a rugosidade superficial.

Para todas as características já mencionadas neste artigo, o vinho, com contato repetitivo com esmalte dentário, causa desmineralização, levando ao aumento da rugosidade. Kwek *et al.* (2015) demonstraram essa capacidade de desmineralização. No entanto, foi possível demonstrar que apenas o uso de alta concentração de flúor

previne e diminui a rugosidade causada pelo vinho. Isso pode ser observado nos dentes expostos ao flúor neutro, que a variação de rugosidade foi significativamente menor do que os dentes do grupo de controle positivo.

A terapia de flúor é frequentemente utilizada para promover a remineralização artificial, que produz fluorapatita mais forte e resistente a ácido em comparação com a hidroxiapatita natural. Strnad e Buka (2014) avaliaram a erosão ácida de diferentes bebidas, incluindo o vinho tinto. Após 10 dias de erosão ácida com vinho tinto, os espécimes foram tratados com Creme Dental Sensodyne® Pro-Esmalte GSK observando que o efeito da erosão ácida do vinho tinto é totalmente recuperável pela remineralização usando produtos disponíveis comercialmente à base de terapia de flúor, levando à recuperação da microdureza do esmalte. Arantes *et al.* (2018) relataram que um composto regenerador de gel formado por componentes de cálcio e fosfatos mais gel de flúor teve excelentes resultados na redução da rugosidade quando comparado a tratamentos sem adição de flúor. Por outro lado, Da Silva *et al.* (2013) descobriram em seu estudo *in vitro* que escovar aumenta a rugosidade e diminui o brilho dentário, o que também explica a redução da rugosidade em espécimes não escovados.

Não houve escovação no G6 e G7, a fim de retratar a realidade, uma vez que o enxaguante bucal e o gel de flúor geralmente não são usados ao lado do pincel. No entanto, observou-se que a falta de remoção mecânica do filme adquirido contribuiu para o aumento da coloração. Como resultado, sugere-se que, em estudos futuros, simulações de escovação também devem ser realizadas com esses fluoretos.

## 6 CONCLUSÃO

- Exposição ao flúor sem remoção mecânica da película adquirida contribuíram para o aumento do manchamento dentário;
- Flúor em altas concentrações mostrou-se capaz de prevenir aumento da rugosidade por erosão por contato prolongado com vinho;
- Resultados favoráveis foram obtidos para os grupos que foram expostos e altas concentrações de flúor com auxílio da ação da escovação mecânica;

Os achados deste trabalho fornecem um importante conhecimento para encontrar formas preventivas e tratamentos contra a alteração de coloração e o aumento da rugosidade superficial do esmalte dentário, tanto pelo vinho quanto por outras bebidas.

## REFERÊNCIAS

1. O REI LEÃO. Produção de Don Hahn. Estados Unidos da América: 1994. 1 fita de vídeo (89 min). VHS, son., color.
2. CASADO BGS, MORAES SLD, SOUZA GFM, GUERRA CFM, SOUTO-MAIOR JR, LEMOS CAA. Efficacy of Dental Bleaching with Whitening Dentifrices: A Systematic Review. *Int J Dent* 2018; 30: 1-8.
3. WATTS A, ADDY M. Tooth discolouration and staining: A review of the literature. *Br Dent J* 2001; 190: 309-316.
4. BAZZI JZ, BINDO MJ, RACHED RN, MAZUR RF, VIEIRA S, SOUZA EM. The effect of at home bleaching and toothbrushing on removal off coffee and cigarette smoke stains and color stability of enamel. *J Am Dent Assoc* 2012; 143: 1-7.
5. WILLERSHAUSEN B, CALLAWAY A, AZRAK B, KLOSS C, SCHULZ-DOBRICK B. Prolonged in vitro exposure to white wines enhances the erosive damage on human permanent teeth compared with red wines. *Nutr Res* 2009; 29: 558-567.
6. OIV. 2019 Statistical Report on World Vitiviniculture. International Organisation of Vine and Wine Intergovernmental Organisation. 2019 <http://www.oiv.int/public/medias/6782/oiv-2019-statistical-report-on-world-vitiviniculture.pdf>
7. GEORGE R, CHELL A, CHEN B, UNDERY R, AHMED H. Dental Erosion and Dentinal Sensitivity amongst Professional Wine Tasters in South East Queensland, Australia. *Sci World J* 2014; 2014: 1-5.
8. KWEK SXR, MIAN M, HALL C, XIE Z, YONG R, KAIDONIS J, et al. Nanoscratch testing for the assessment of enamel demineralization under conditions simulating wine erosion. *Aust Dent J* 2015; 60: p.12–17.
9. BERGER SB, COELHO AS, OLIVEIRA VAP, CAVALLI V, GIANNINI M. Enamel susceptibility to red wine staining after 35% hydrogen peroxide bleaching. *J Appl Oral Sci*, 2008; 16: 201-204.
10. TURSSI, C. P.; MAEDA, F. A.; MESSIAS, D. C. F.; RHEDER NETO, F. C.; SERRA, M. C.; GALAFASSI, D. Effect of potential remineralizing agents on acid softened enamel. *American Journal of Dentistry* 2011; 24: 165-168.
11. STRNAD G, BUKA I. Effect of acid erosion followed by remineralization process on microhardness of dental enamel. *Proc Technol* 2014; 12: 308-315.
12. CREETH, J. E.; BURNETT, G. R.; SOUVERAIN, A; GOMEZ-PEREIRA, P; ZERO, D. T.; LIPPERT, F.; HARA, A. T. In situ efficacy of an experimental toothpaste on enamel rehardening and prevention of demineralisation: a randomised, controlled trial. *BMC Oral Health* 2020; 20: 1-10.

13. YILMAZ ED, KOLDEHOFF J, SCHNEIDER GA. On the systematic documentation of the structural characteristics of bovine enamel: A critic to the protein sheath concept. *Dent Mater J* 2018; 34:1518-1530.
14. SWAMY UKP, AMRAVAI AR, MANDADI SR, HABEEB A. Effect of alcoholic beverages on shear bond strength of composites to enamel. *J Conserv Dent* 2018; 21: 542-545.
15. ZANATTA RF, ÁVILA DMS, MIYAMOTO KM, TORRES CRG, BORGES AB. Influence of Surfactants and Fluoride against Enamel Erosion. *Caries Res* 2018; 53: 1-9.
16. ARAÚJO DB, SILVA LR, CAMPOS EJ, ARAÚJO RPC. In vitro study on tooth enamel lesions related to whitening dentifrice. *Indian J Dent Res* 2011; 22: 770-776.
17. CHEN, Y; YANG, S.; HONG, D; ATTIN, T; YU, H. Short-term effects of stain-causing beverages on tooth bleaching: A randomized controlled clinical trial. *Journal of Dentistry*, 2020, 95: 103318.
18. DOZIC A, KLEVERLAAN CJ, EI-ZOHAIRY A, FEILZER AJ, KHASHAYAR G. Performance of five commercially available tooth color-measuring devices. *J Prosthodont* 2007; 16: 96-100.
19. AZER SS, HAGUE AL, JOHNSTON WM. Effect of bleaching on tooth discoloration from food colorant in vitro. *Int J Dent* 2011; 38: 52-56.
20. TURGUT, S; KILINÇ, H; ULUSOY, KU; BAGIS, B. The Effect of Desensitizing Toothpastes and Coffee Staining on the Optical Properties of Natural Teeth and Microhybrid Resin Composites: An In-Vitro Study. *BioMed research internacional* 2018; 23.
21. YASSEN GH, PLATT JA, HARA AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci* 2011; 53: 273-282.
22. HARUYAMA A, KAMEYAMA A, ONO T, BABA Y, SUGIYAMA T, SUGIYAMA S, TAKAHASHI T. Combined effects of electric toothbrushing and dentifrice on artificial stain removal: An in vitro study. *Clin Exp Dent* 2018;10: 200-205.
23. MEYERS IA, MCQUEEN MJ, HARBROW D, SEYMOUR GJ. The surface effect of dentifrices. *Aust Dent J* 2000; 45: 118-124.
24. MONTEIRO, H.D.D.; VALENTIM, P.T.; ELIAS, D.C.; MOREIRA, A.N.; CORNACCHIA, T.P.M.; MAGALHÃES, C.S. Effect of surface treatments on staining and roughness of bleached enamel. *Indian Journal of Dental Research* 2019; 30 (3): 393-398.
25. Da Silva, EM; DÓRIA, J; DA SILVA, JJR; SANTOS, GV; GUIMARÃES, JGA; POSKUS, LT. Longitudinal evaluation of simulated toothbrushing on the

roughness and optical stability of microfilled, microhybrid and nanofilled resin-based composites. *Journal of dentistry*, 2012; v 41, n 11, p 1081-1090.

26. ROSELINO LMR, TIRAPELLI C, SOUZA FCPP. Randomized clinical study of alterations in the color and surface roughness of dental enamel brushed with whitening toothpaste. *J Esthet Restor Dent* 2018; 30: 383-389.
27. ARANTES, B.F.; MENDONÇA, L.O.; PALMA-DIBB, R.G.; FARAONI, J.J.; CASTRO, D.T.; GERALDO-MARTINS, V.R.; LEPRI, C.P. Influence of Er,Cr:YSGG laser, associated or not to desensitizing agents, in the prevention of acid erosion in bovine root dentin. *Lasers in Medical Science* 2018; 34: 893-900.
28. ARANTES, B.F.; MENDONÇA, L.O.; PALMA-DIBB, R.G.; FARAONI, J.J.; CASTRO, D.T.; GERALDO-MARTINS, V.R.; LEPRI, C.P. Influence of Er,Cr:YSGG laser, associated or not to desensitizing agents, in the prevention of acid erosion in bovine root dentin. *Lasers in Medical Science* 2018; 34: 893-900

## **APÊNDICE A - ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA A AUSTRALIAN DENTAL JOURNAL**

### **USE OF FLUORIDE AGENTS IN PREVENTION OF DENTAL STAINING AND ROUGHNESS CAUSED BY RED WINE**

#### **INTRODUCTION**

Smile is one of the most important interactive forms of communication for a person and care with teeth includes avoiding diseases, as caries, as well as aesthetics. Dental staining complaints are commonly reported in patients seeking aesthetic treatment (CASADO et al., 2018) and can be caused by intrinsic factors – that can be congenital, such as imperfect dentinogenesis, or post-natal occurring during the dental formation, due to use of tetracyclines, fluorosis or trauma – or extrinsic factors (WATTS, ADDY, 2001).

Extrinsic staining usually involves the accumulation of plaque and pigmented food substances that are frequently consumed. Natural dyes, such as coffee, tea, red wine, orange and açai juices, or artificial such as isotonic or soft drinks usually cause this type of staining (BAZZI et al., 2012).

Moderate consumption of alcoholic beverages, including red and white wines, is a tradition in many regions of the world, especially in wine-producing regions and western industrial countries. However, an increase in its consumption has also been observed in other countries due to the ease of commercialization (WILLERSHAUSEN et al., 2009).

Regarding overall wine consumption, it has been observed a steady growth in consumption since 2014 (241 million hectolitres), that seems to stabilize in 2018 with 246 million hectolitres of wine consumed in the world (OIV, 2019).

The pH of wines can range from 3.0 to 4.0 and acidity is quite harmful, as it can result in erosion of hard dental tissue (GEORGE et al., 2014), which refers to the loss of dental structure by demineralization process (KWEK et al., 2015). The long-term effects of erosion on the dental surface include pigmentation, dentin sensitivity, dentin exposure and, in more severe cases, irreversible pulpitis and pulp necrosis (GEORGE et al., 2014). Red wine, besides being an acidic drink, contains a high concentration of pigments and ethanol that could intensify the demineralization of the enamel surface,

increasing the fixation of dyes (BEGER et al., 2008). Therefore, fluoride therapy is often used to promote dental remineralization and studies (TURSSI et al., 2011; STRNAD, BUKA, 2014; CREETH et al., 2020;) have shown that treatment with fluoride-containing toothpastes contributes to the protection of enamel against acid-mediated surface wear and promotes the restoration of hardness after erosive attack.

However, there is still a lack of clear scientific evidence of the direct relationship between the use of fluorides and their different concentrations and presentations with the prevention of tooth staining by pigmented acid beverages, such as wine. To date, no articles related to this goal were found even with the increasing of red wine consumption worldwide.

The aim of this study was to verify whether different forms of fluoride presentation and concentration can contribute to the reduction of tooth staining and rugosity due to different forms of exposure to red wine.

## MATERIALS AND METHODS

This study was carried out at the Laboratory of Biomaterials, Department of Prosthesis and Buco-facial Surgery, Federal University of Pernambuco (UFPE) after approval by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) under process n. 101/2019.

One hundred and thirty bovine sound incisors (without abrasion or pathological enamel changes) were obtained and selected from a local slaughterhouse and kept in artificial saliva (Roval Pharmacy, Recife, Brazil) until the beginning of the study.

Extrinsic stains and dental organic deposits were removed with periodontal currettes and prophylaxis with pumice and water with the aid of Robinson's brush. Roots were cut at their cervical third with double-sided diamond discs KG Sorensen® (Medical Burs, Cotia, Brazil) for total removal of pulp tissue, and then disinfected in 0.1% thymol solution for 24 hours (YILMAZ, KOLDEHOFF, SCHNEIDER, 2018).

The root extremities were isolated with utility wax. Entire root and coronary structure, except a delimited region (1 cm<sup>2</sup>) on the middle third of the vestibular face, were isolated with five layers of Super Bonder® (Loctite Gel, São Paulo, Brazil), so that neither the wine nor the fluoridated solutions penetrated through another region other than the vestibular face of the teeth.

Teeth were divided into seven groups, according to Table 1. All groups (n = 20) were divided into two subgroups, except G1 (n=10), and were named subgroup SP simulating professional wine tasters and subgroup SC simulating wine consumers. G1 (negative control) simulated individuals who do not consume wine.

SP were immersed in wine for 60 consecutive minutes every day and SC were immersed in wine for 30 minutes on alternate days, being these 30 minutes divided into 3 times of 10 minutes, with an interval of 5 minutes between them immersed in artificial saliva (SWAMY et al., 2018; ZANATTA et al., 2018).

Exposure to fluoridated agents occurred twice a day at 25 °C for 1 minute, with an interval of 12 hours. After 30 minutes of the second exposure to protective agents, teeth were immersed in Dry Red wine Adega do Vale Cabernet Sauvignon pH 3.6, 10.5% Alcohol (Rio Sol, Vale do São Francisco, Brazil), for the time assigned to each subgroup.

G3, G4 and G5 were submitted to the same brushing technique with rotational brushing with Pressure Detector Oral B® Professional Care Triumph 5000 (Queimados, Brazil) for 5 seconds and remained in contact with the fluoridated agent for 1 minute before being washed with running mineral water. The portion of toothpastes (0.4 g) used in all brushings was comparable to a pea grain size (ARAUJO et al., 2011). G6 was immersed in Colgate Plax® Soft Mint mouthwash (São Bernardo do Campo, Brazil) for 1 minute, without rinsing with water. G7 was put in contact with fluoride gel SS White Flutop® (Rio de Janeiro, Brazil) for 1 minute, which was removed with gauze immediately after its use, as recommended by manufacturers. Then, specimens were immersed in artificial saliva during the intervals between exposures.

Color analysis was performed using a portable digital spectrophotometer EasyShade® Vita-Zahnfabrik, (Bad Sackingen, Germany), positioned in the middle third of the vestibular face of the teeth, in the previously delimited region. The quantitative measurement of this device is compatible with the Classical VITA™ and VITA™ 3D-Master scales, facilitating the selection and comparison of color. Colorimetric values were obtained through readings of the color intervals through the CIELab system established by the International Commission and l'Eclairaga – CIE (AYDIN et al., 2021; CHEN et al., 2020).

CIELab allows the specification of color perceptions in terms of a three-dimensional space, through wavelength versus reflection. Axial "L" is known as luminosity and extends from 0 (black) to 100 (perfect white). Coordinate "a" represents

the amount of red (positive values) and green (negative values), while coordinate "b" represents the amount of yellow (positive values) and blue (negative values). Coordinates "a" and "b" coexist on the same plane within this three-dimensional space (DOZIC et al., 2007).

Color recording was performed in two moments: before beginning of the exposure (T0) and at the end of 30 days (T30). To measure color differences ( $\Delta E$ ) presented by the staining, it was necessary to use the formula:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

recommended by the CIE method, where  $\Delta L$ ,  $\Delta a$  and  $\Delta b$  were calculated from the final readings minus the initial readings.

Rugosimetry was performed before the beginning of exposure to agents (T0) and after 30 days of exposure (T30). The mean surface roughness (Ra) was measured using a contact profilometer (SURFTEST SJ 310, Mitutoyo Corp, Kanagawa, Japan). Each specimen was positioned on a glass plate and fixed with utility wax with the vestibular face upwards. Six successive measurements were performed in vertical direction (cervico-incisal direction) of each sample, at a speed of 0.5 mm/s with a cutoff point of 0.25 mm and a trace length of 5.0 mm. The unit of measurement of rugosimeter is Ra, which corresponds to arithmetic mean of absolute values of ordered (X, Y) of the distances from the points of roughness profile, in relation to mean line.

From the data obtained, descriptive and inferential statistical tests (Anova/Tukey-post hoc, Kruskal-Wallis, Dunn's post hoc, Wilcoxon/ Mann Whitney), were performed at a significance level of 5%.

For a better understanding, the step-by-step of methodology is in the timeline drawing in Figure 1.

## RESULTS

A descriptive analysis of color variation in each subgroup, in the range of 0 to 30 days, is presented in Table 2 and Figure 2.

The lowest color variation was seen in G1. Comparisons between G1xG2SP and G1xG2SC, confirming staining by red wine ( $p < 0.05$ ). The mean value of color variations in all SP were higher when compared to corresponding SC.

Table 3 shows the p-value obtained with the color variation comparison between the samples of SP. There was no significant difference ( $p > 0.05$ ) between positive control group and experimental groups, except for G6 (Colgate Plax Soft Mint<sup>®</sup>), which presented higher tooth staining than G2 (positive control), G3 (Colgate<sup>®</sup> Total 12<sup>®</sup> Professional Daily Repair) and G4 (Colgate<sup>®</sup> Sensitive Pro-Relief). It is also worth mentioning that G7 (SS White Flutop<sup>®</sup>) presented greater color variation than G3.

Data of color variation obtained by comparing SC are shown in Table 4. There was no statistical difference between the positive control (G2) and the other groups, except G7, which presented higher tooth staining ( $p < 0.05$ ) compared to G2, G3 and G5 (Colgate<sup>®</sup> Orthogard<sup>®</sup>). G6 presented greater staining compared with G5 ( $p < 0.05$ ).

According to analysis of the surface roughness, when comparing negative control (G1) with the positive controls (G2SP and G2SC), there was a difference between mean values, confirming increase in roughness caused by red wine. A descriptive analysis of the roughness variation in each subgroup is presented in Table 5 (T0 X T30).

Table 6 shows the comparison between SP about roughness variation. It was found significance ( $p < 0.05$ ) in the comparison between the control group and the group that used neutral fluoride SS White Flutop<sup>®</sup>. G7SP showed lower roughness variation.

Comparing SC (T0 x T30), statistically significant difference about roughness variation can be observed between G6SC x G2SC or G4SC. In both cases, teeth exposed to mouthwash showed lower variation in roughness (Table 7).

## DISCUSSION

It is known that some factors related to acid beverage consumption, such as coffee and tea drinking, are among the main factors that can lead to extrinsic pigmentation in dental enamel, more precisely in the acquired biofilm or areas with dissolution of enamel (AZER, HANGUE, JOHNSTON, 2011; BAZZI et al., 2012). Red

wine, besides being an acidic drink, contains a high amount of pigments and ethanol that could induce vulnerability to stains (BEGER et al., 2008). However, there are still no studies, to the best of our knowledge, that directly associate the use of fluorides as a preventive agent in dental staining by wine.

The use of bovine teeth in the studies is an option often considered because they are easily acquired and increasingly indicated by the ethics committees (BAZZI et al., 2012). Incisors are often selected, since they are found healthy, in large quantities, and have a wide surface, usually free of defects and carious lesions when compared with other teeth (YASSEN, PLATT, HARA, 2011). In addition, bovine teeth also have larger flat areas that can accommodate the tip of spectrophotometer handpiece and do not differ significantly from human teeth in terms of baseline color. (BAZZI et al., 2012). However, bovine teeth have a very rough surface texture, unlike human teeth, and, because they are extracted teeth, they are not subject to pressure and hydration of the pulp, which can cause some difference when compared to the staining and roughness caused by wine in clinical trials.

In this study, it was analyzed the use of three different presentations and four fluoride concentrations in bovine teeth, in order to identify whether there was efficacy to reduce staining and roughness from exposure to red wine of Cabernet Sauvignon grape, in exposure period of 30 days. The results revealed a statistically significant difference between some of different presentations and fluoride concentrations.

After analysis of statistical tests, represented in Table 2, Figures 2 and 3, Table and Figure 4, comparing G1 with positive control groups (G2SP and G2SC), exposure to wine could cause tooth staining and roughness. However, continuous contact with wine (SP) causes greater dental pigmentation when compared to intermittent or casual contact (SC), indicating that the form of exposure reflected in different dental staining patterns.

It is suggested that tooth staining is derived from polyphenolic compounds that provide color in food and beverages. These organic chromophores are absorbed into the acquired biofilm and emit the natural color, resulting in dental staining. (AZER, HAGUE, JOHNSTON, 2011). Some extrinsic stains can be removed partially or completely by brushing with toothpaste (BAZZI et al., 2012). In addition, artificial saliva was used in this study to store teeth, and according to Turgut et al (2018), pigment deposition and consequent accumulation of artificial saliva act as a matrix, which may result in staining. We observed that teeth that were not washed after exposure to

protective agents tended to have larger stains, which may be related to an acquired film formed by mouthwash and fluoride gel that also helped retain more pigment which can justify the results obtained in G6SP and G7SC.

It was observed that the association of brushing with use of fluoridated toothpastes contributes to the reduction of the film acquired on the dental surface, consequently reducing and removing extrinsic stains. The groups submitted to brushing (G3, G4 and G5) did not present significant difference between them (despite the difference in fluoride concentrations), but presented lower color variation when compared to groups that were not brushed, in professional taster subgroups or consumer subgroups. The result is in agreement with Haruyama et al. (2018), who demonstrated, in their *in vitro* study, that the combination of the use of fluoridated toothpastes and electric brushing removes artificial staining more effectively than electric toothpaste-free brushing. The use of a whitening toothpaste containing sodium pyrophosphate and a common toothpaste containing fluoride, both containing anhydrous silica as abrasive, were compared. They concluded that the abrasive component is what helps in the removal of extrinsic stains, next to brushing.

Still considering effect of abrasive particles, Meyers et al. (2000) evaluated changes on the dental surface structure and gingival tissue during brushing with toothpastes containing abrasive substances in comparison with water. They found that enamel surface remained unchanged in groups that performed toothpaste brushing. The enamel surface of the group that received brushing only with water was covered with an amorphous layer suggestive of film, which often darkened the underlying morphology of the enamel.

In this study, regardless of concentration, no efficacy of fluoride was observed as a preventive agent for dental staining. There was no statistical difference in variation of color between fluoride concentrations when isolating the comparison between the 3 groups that were submitted to brushing with toothpastes containing abrasive particles (G3 x G4 x G5) or when isolating the 2 groups that were not exposed to mechanical brushing (G6 x G7). When comparing the control group (G2) and the experimental ones, except that when fluoride was not associated with brushing (G6 and G7), greater color changes were noted. Even though the higher concentration of fluorides were in G7, there were statistical difference between G3SP x G7SP, G2SC x G7SC, G3SC x G7S2C and G5SC x G7SC for dental staining. This difference occurred possibly because the tooth was not washed after exposure, the mouthwash and the fluoride gel

formed a film on the teeth that increased the pigment's adhesive. In addition, the mouthwash has a slightly bluish color, which may have interfered. Like Monteiro et al. (2019), who demonstrated that fluoride gel has a significant effect on reducing the roughness of dental enamel, but does not decrease dental staining. Probably, G6 (mouthwash) and G7 (gel fluoride) did not have good results due to the lack of rinsing (forming acquired film, retaining more pigment) and the lack of brushing, which helps in removal of superficial pigments.

There is a direct relationship between change in tooth color and superficial roughness, due to texture of enamel surface, associated with light scattering and pigment retention. Rougher surfaces modify absorption and scattering of light diffusely, unlike the smoother surfaces, where there is the specular reflection of light (ROSELINO, TIRAPELLI, SOUZA, 2018). However, this direct association was not found in this study. We speculate that G6 had more staining because it was not brushed, it formed a film and adsorbed more pigment. The lack of brushing may also have been responsible for not increasing the surface roughness.

For all characteristics already mentioned in this article, wine, with repetitive contact with dental enamel, causes demineralization, leading to increased roughness. Kwek et al. (2015) demonstrated this demineralization capacity. However, it was possible to demonstrate that only the use of high fluoride concentration prevents and decreases roughness caused by wine. This can be observed in the teeth exposed to neutral fluoride which roughness variation was significantly lower than teeth of positive control group.

Fluoride therapy is often used to promote artificial remineralization, which produces stronger, acid-resistant fluorapatite compared to natural hydroxyapatite. Strnad and Buka (2014) evaluated acid erosion from different beverages, including red wine. After 10 days of acid erosion with red wine, the specimens were treated with Sensodyne Dental Cream® Pro-Enamel GSK noting that the effect of acid erosion of red wine is fully recoverable by remineralization using commercially available products based on fluoride therapy, leading to the recovery of enamel microhardness. Arantes et al. (2018) reported that a gel regenerating compound formed by calcium components and phosphates plus fluoride gel had excellent results in reducing roughness when compared to treatments without fluoride addition. On the other hand, Da Silva et al (2013) found in their *in vitro* study that brushing itself increases

roughness and decreases tooth gloss, which also explains the reduction of roughness in non-brushed specimens.

There was no brushing in G6 and G7, in order to portray reality, since mouthwash and fluoride gel are usually not used next to the brush. However, it was noted that the lack of mechanical removal of the acquired film contributed to the increase in staining. As a result, it is suggested that, in future studies, brushing simulations should also be performed with these fluorides.

## CONCLUSION

Regardless of concentration, no efficacy of fluoride was observed as a preventive agent for dental staining. Fluoride treatments without mechanical removal of the acquired film contributed to the increase of dental staining. Increase of roughness by prolonged contact with wine can be prevented by fluoride at high concentrations.

To date, no studies have been found that directly assess the use of fluoride as a preventive agent in the stains or roughness caused by red wine. The findings of this article provide an important insight to find preventive forms and treatments against staining and increased roughness, both by wine and other beverages.

## ACKNOWLEDGEMENTS

*This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. The author Priscilla Chaves Bandeira Veríssimo de Souza was benefited by the CAPES scholarship in the last year of the master's degree.*

## Conflict of Interest

The authors report no conflict of interest related to this study.

## REFERENCES

1. CASADO BGS, MORAES SLD, SOUZA GFM, GUERRA CFM, SOUTO-MAIOR JR, LEMOS CAA. Efficacy of Dental Bleaching with Whitening Dentifrices: A Systematic Review. *Int J Dent* 2018; 30: 1-8.
2. WATTS A, ADDY M. Tooth discolouration and staining: A review of the literature. *Br Dent J* 2001; 190: 309-316.
3. BAZZI JZ, BINDO MJ, RACHED RN, MAZUR RF, VIEIRA S, SOUZA EM. The effect of at home bleaching and toothbrushing on removal off coffee and cigarette smoke stains and color stability of enamel. *J Am Dent Assoc* 2012; 143: 1-7.
4. WILLERSHAUSEN B, CALLAWAY A, AZRAK B, KLOSS C, SCHULZ-DOBRICK B. Prolonged in vitro exposure to white wines enhances the erosive damage on human permanent teeth compared with red wines. *Nutr Res* 2009; 29: 558-567.
5. OIV. 2019 Statistical Report on World Vitiviniculture. International Organisation of Vine and Wine Intergovvenmental Organisation. 2019 <<http://www.oiv.int/public/medias/6782/oiv-2019-statistical-report-on-world-vitiviniculture.pdf>>
6. GEORGE R, CHELL A, CHEN B, UNDERY R, AHMED H. Dental Erosion and Dentinal Sensitivity amongst Professional Wine Tasters in South East Queensland, Australia. *Sci World J* 2014; 2014: 1-5.
7. KWEK SXR, MIAN M, HALL C, XIE Z, YONG R, KAIDONIS J, ET AL. Nanoscratch testing for the assessment of enamel demineralization under conditions simulating wine erosion. *Aust Dent J* 2015; 60: p.12–17.
8. BERGER SB, COELHO AS, OLIVEIRA VAP, CAVALLII V, GIANNINI M. Enamel susceptibility to red wine staining after 35% hydrogen peroxide bleaching. *J Appl Oral Sci*, 2008; 16: 201-204.
9. TURSSI, CP; MAEDA, FA; MESSIAS, DCF; RHEDER NETO, FC; SERRA, MC; GALAFASSI, D. Effect of potential remineralizing agents on acid softened enamel. *American Journal of Dentistry* 2011; 24: 165-168.
10. STRNAD G, BUKA I. Effect of acid erosion followed by remineralization process on microhadness of dental enamel. *Proc Technol* 2014; 12: 308-315.
11. CREETH, JE; BURNETT, GR; SOUVERAIN, A; GOMEZ-PEREIRA, P; ZERO, DT; LIPPERT, F; HARA, AT. In situ efficacy of an experimental toothpaste on enamel

- rehardening and prevention of demineralisation: a randomised, controlled trial. *BMC Oral Health* 2020; 20: 1-10.
12. YILMAZ ED, KOLDEHOFF J, SCHNEIDER GA. On the systematic documentation of the structural characteristics of bovine enamel: A critic to the protein sheath concept. *Dent Mater J* 2018; 34:1518-1530.
  13. SWAMY UKP, AMRAVAI AR, MANDADI SR, HABEEB A. Effect of alcoholic beverages on shear bond strength of composites to enamel. *J Conserv Dent* 2018; 21: 542-545.
  14. ZANATTA RF, ÁVILA DMS, MIYAMOTO KM, TORRES CRG, BORGES AB. Influence of Surfactants and Fluoride against Enamel Erosion. *Caries Res* 2018; 53: 1-9.
  15. ARAÚJO DB, SILVA LR, CAMPOS EJ, ARAÚJO RPC. In vitro study on tooth enamel lesions related to whitening dentifrice. *Indian J Dent Res* 2011; 22: 770-776.
  16. AYDIN, N; TOPÇU, FT; KARAOGLANOGLU, S; OKTAY, EA; ERDEMIR, U. Effect of finishing and polishing systems on the surface roughness and color change of composite resins. *Journal Clin Exp Dent* 2021; 13(5): e446-e454.
  17. CHEN, Y; YANG, S.; HONG, D; ATTIN, T; YU, H. Short-term effects of stain-causing beverages on tooth bleaching: A randomized controlled clinical trial. *Journal of Dentistry*, 2020, 95: 103318.
  18. DOZIC A, KLEVERLAAN CJ, EI-ZOHAIRY A, FEILZER AJ, KHASHAYAR G. Performance of five commercially available tooth color-measuring devices. *J Prosthodont* 2007; 16: 96-100.
  19. AZER SS, HAGUE AL, JOHNSTON WM. Effect of bleaching on tooth discoloration from food colorant in vitro. *Int J Dent* 2011; 38: 52-56.
  20. TURGUT, S; KILINÇ, H; ULUSOY, KU; BAGIS, B. The Effect of Desensitizing Toothpastes and Coffee Staining on the Optical Properties of Natural Teeth and Microhybrid Resin Composites: An In-Vitro Study. *BioMed research internacional* 2018; 23.
  21. YASSEN GH, PLATT JA, HARA AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci* 2011; 53: 273-282.
  22. HARUYAMA A, KAMEYAMA A, ONO T, BABA Y, SUGIYAMA T, SUGIYAMA S, TAKAHASHI T. Combined effects of electric toothbrushing and dentifrice on artificial stain removal: An in vitro study. *Clin Exp Dent* 2018;10: 200-205.

23. MEYERS IA, MCQUEEN MJ, HARBROW D, SEYMOUR GJ. The surface effect of dentifrices. *Aust Dent J* 2000; 45: 118-124.
24. MONTEIRO, HDD; VALENTIM, PT; ELIAS, DC; MOREIRA, AN; CORNACCHIA, TPM; MAGALHÃES, CS. Effect of surface treatments on staining and roughness of bleached enamel. *Indian Journal of Dental Research* 2019; 30 (3): 393-398.
25. Da Silva, EM; DÓRIA, J; DA SILVA, JJR; SANTOS, GV; GUIMARÃES, JGA; POSKUS, LT. Longitudinal evaluation of simulated toothbrushing on the roughness and optical stability of microfilled, microhybrid and nanofilled resin-based composites. *Journal of dentistry*, 2012; v 41, n 11, p 1081-1090.
26. ROSELINO LMR, TIRAPELLI C, SOUZA FCPP. Randomized clinical study of alterations in the color and surface roughness of dental enamel brushed with whitening toothpaste. *J Esthet Restor Dent* 2018; 30: 383-389.
27. ARANTES, B.F.; MENDONÇA, L.O.; PALMA-DIBB, R.G.; FARAONI, J.J.; CASTRO, D.T.; GERALDO-MARTINS, V.R.; LEPRI, C.P. Influence of Er,Cr:YSGG laser, associated or not to desensitizing agents, in the prevention of acid erosion in bovine root dentin. *Lasers in Medical Science* 2018; 34: 893-900
28. ARANTES, B.F.; MENDONÇA, L.O.; PALMA-DIBB, R.G.; FARAONI, J.J.; CASTRO, D.T.; GERALDO-MARTINS, V.R.; LEPRI, C.P. Influence of Er,Cr:YSGG laser, associated or not to desensitizing agents, in the prevention of acid erosion in bovine root dentin. *Lasers in Medical Science* 2018; 34: 893-900

## TABLES

Table 1 - Distribution of experimental groups according to the type of exposure to wine, commercial product employed, fluoride presentation and fluoride concentration

Group	Exposure wine	Commercial name	Fluoride Presentation	Fluoride Concentration
G1	No	----	----	Negative control
G2	Yes	----	----	Positive control
G3	Yes	Colgate® Total 12® Professional Daily Repair	Toothpaste	1.450 ppm
G4	Yes	Colgate® Sensitive Pro-Relief	Toothpaste for sensitivity	1.450 ppm
G5	Yes	Colgate® Orthogard®	Dental gel with high fluoride concentration	5.000 ppm
G6	Yes	Colgate® Plax® Soft Mint	Mouthwash	500 ppm
G7	Yes	SS White Flutop®	Neutral fluoride	20.000 ppm (2%)

Table 2 - Descriptive data of color variation in 30 days per subgroup

T0 x T30	Mean	Standard deviation
<b>G1</b>	9.015	5.176
<b>G2SP</b>	52.369	7.920
<b>G2SC</b>	37.204	9.479
<b>G3SP</b>	47.893	6.415
<b>G3SC</b>	36.176	4.519
<b>G4SP</b>	52.859	7.840
<b>G4SC</b>	39.496	10.867
<b>G5SP</b>	54.696	7.783
<b>G5SC</b>	34.321	5.833
<b>G6SP</b>	63.964	8.066
<b>G6SC</b>	43.866	4.586
<b>G7SP</b>	58.540	8.760
<b>G7SC</b>	48.367	5.078

Table 3 - Statistical test (ANOVA, Tukey post hoc) of SP color variation in the period of 30 days

T0 x T30	G2	G3	G4	G5	G6	G7
G2		p=0.7953	p=1.000	p=0.985	p= <b>0.021</b>	p=0.498
G3			p=0.716	p=0.388	p= <b>0.001</b>	p= <b>0.040</b>
G4				p=0.995	p= <b>0.030</b>	p=0.588
G5					p=0.108	p=0.880
G6						p=0.646

Table 4 - Statistical test (ANOVA, Tukey post hoc) of SC color variation in the period of 30 days

T0 x T30	G2	G3	G4	G5	G6	G7
G2		p=1.000	p=0.980	p=0.945	p=0.315	p= <b>0.012</b>
G3			p=0.904	p=0.992	p=0.176	p= <b>0.005</b>
G4				p=0.594	p=0.750	p=0.079
G5					p= <b>0.048</b>	p= <b>0.001</b>
G6						p=0.726

Table 5 - Descriptive data of roughness variation in 30 days

Group	T0	T30	Mean	SD	P-value
Mean surface roughness					
G1	0.608	0.607	-0.001	0.011	0.500
G2SP	0.641	0.884	0.242	0.103	<b>0.001</b>
G2SC	0.855	1.140	0.288	0.250	<b>0.001</b>
G3SP	0.807	0.937	0.167	0.182	<b>0.007</b>
G3SC	0.579	0.731	0.152	0.097	<b>0.001</b>
G4SP	0.738	0.893	0.155	0.048	<b>0.001</b>
G4SC	0.804	1.090	0.290	0.245	<b>0.001</b>
G5SP	0.765	0.910	0.146	0.110	<b>0.005</b>
G5SC	0.586	0.752	0.166	0.086	<b>0.001</b>
G6SP	0.627	0.811	0.183	0.272	<b>0.019</b>
G6SC	0.661	0.689	0.028	0.094	0.278
G7SP	0.826	0.876	0.049	0.089	0.080
G7SC	0.681	0.805	0.124	0.164	<b>0.005</b>

Table 6 - Statistical test (DUNN – POST HOC KRUSKAL-WALLIS) of SP roughness variation in the period of 30 days

T0 x T30	G2	G3	G4	G5	G6	G7
G2		p=0.260	p=0.404	p=0.450	p=0.480	<b>p=0.002</b>
G3			p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=0.520
G4				p=0.500	p=1.000	p=0.292
G5					p=0.980	p=0.280
G6						p=0.280

Table 7 - Statistical test (DUNN – POST KRUSKALL-WALLIS) of SC roughness variation in the period of 30 days

T0 x T30	G2	G3	G4	G5	G6	G7
G2		p=0.750	p=0.464	p=0.552	<b>p=0.004</b>	p=0.152
G3			p=0.716	p=0.818	p=0.160	p=0.570
G4				p=0.717	<b>p=0.003</b>	p=0.131
G5					p=0.112	p=0.663
G6						p=0.717

## FIGURES

Figure 1 - Step-by-step timeline of the methodology used

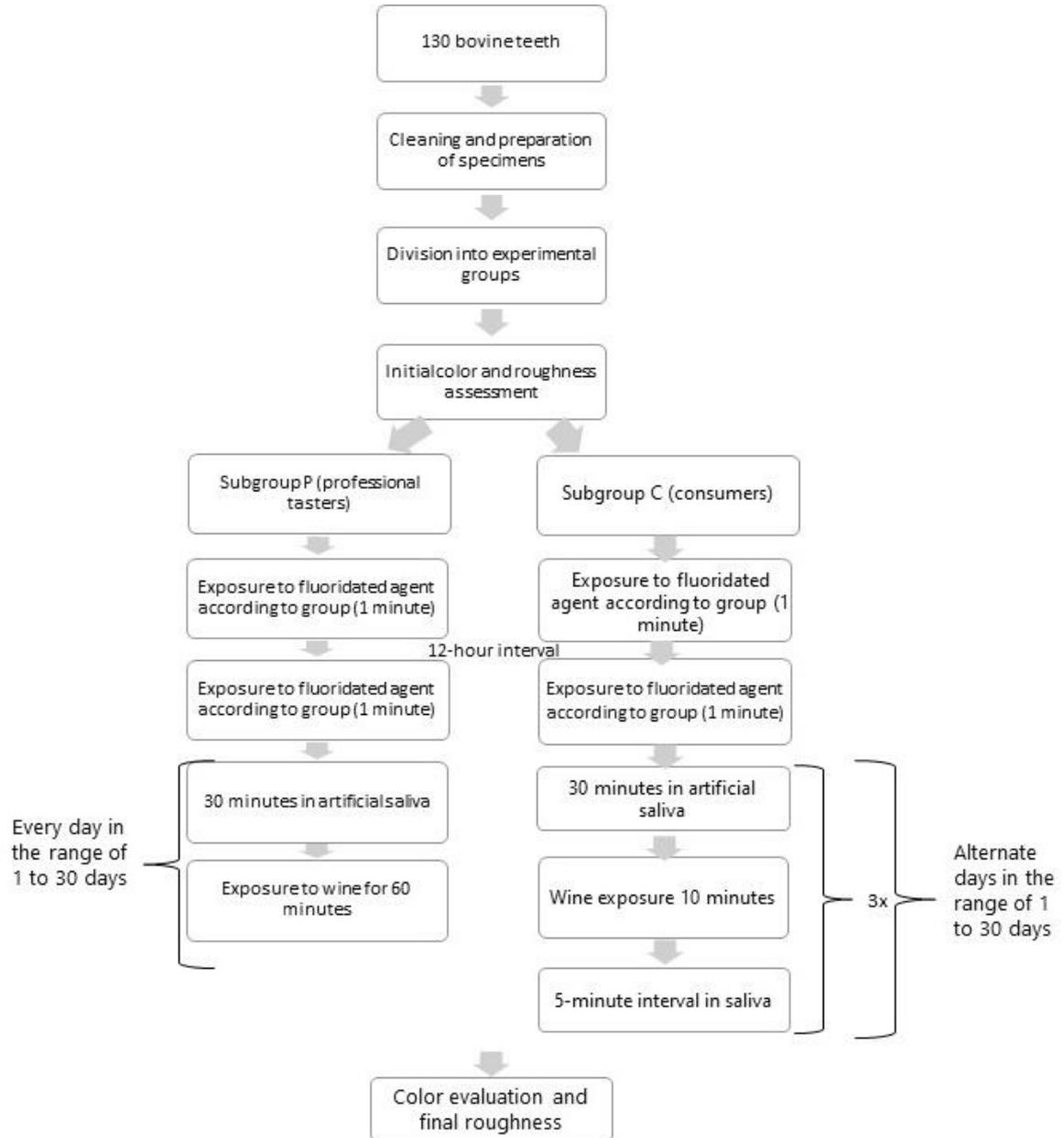


Figure 2 – Color variation after 30 days

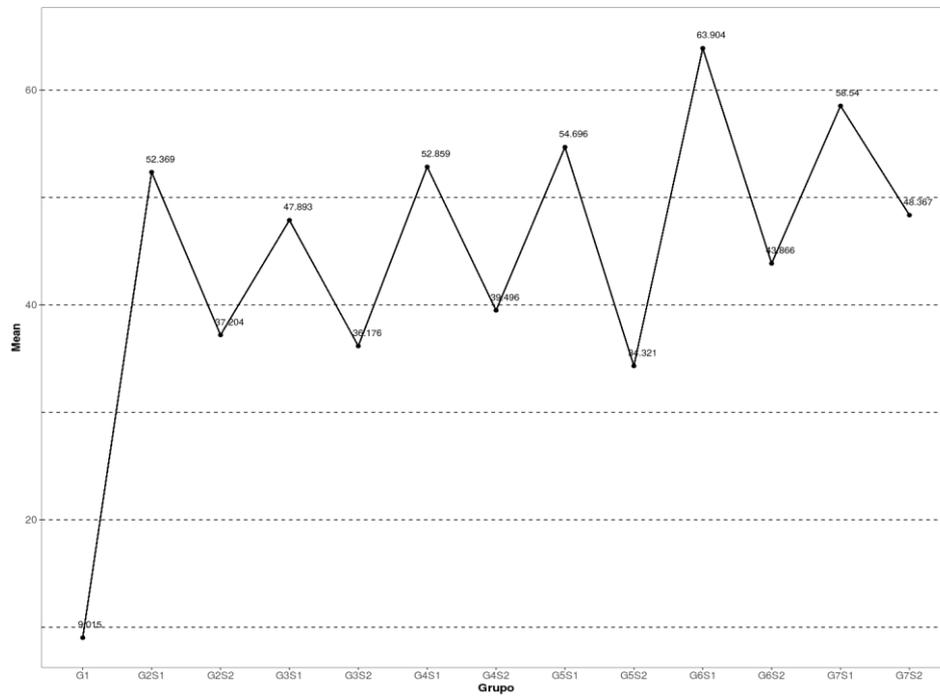
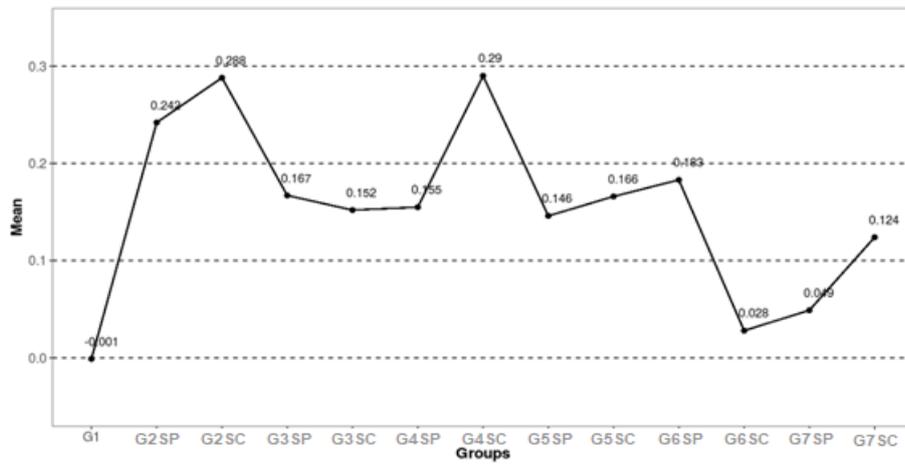


Figure 3 - Roughness variation after 30 days



## ANEXO A – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Universidade Federal de Pernambuco  
 Centro de Biociências  
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n  
 50670-420 / Recife - PE - Brasil  
 Fones: 2126 8842  
 cesa@ufpe.br

Recife, 10 de novembro de 2019

Ofício nº 95/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Daene Patricia Tenório Salvador da Costa**  
**Departamento de prótese e cirurgia buco facial / materiais dentários**  
 Universidade Federal de Pernambuco  
 Processo nº **101/2019**

Certificamos que a proposta intitulada “**Uso de fluoretos na prevenção do aumento da rugosidade e manchamento dentário por vinho**”, registrado com o **101/2019** sob a responsabilidade de **Prof. Daene Patricia Tenório Salvador da Costa** o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 29/10/2019

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	novembro 2019 a maio 2020
Espécie/linhagem/raça	Dentes incisivos de bovinos provindos de frigorífico.
Nº de animais	130
Peso/idade	.....
Sexo	.....
Origem: Biotério de Criação	frigorífico bandeira ltdacnpj: 04.068.203/0001-70 endereço: rua catole novo, s/n. artur lundgren ii, paulista- pe. cep: 53416-720. telefone: 3371-8670 / (81) 9178-0808
Destino: Biotério de Experimentação	

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva  
 Presidente CEUA/UFPE  
 SIAPE 2345691

## ANEXO B – CARTA DE AUTORIZAÇÃO DE DOAÇÃO DOS DENTES BOVINOS

PREFEITURA MUNICIPAL DA CIDADE DE PAULISTA  
FRIGORÍFICO BANDEIRA LTDA

### CARTA DE AUTORIZAÇÃO

Eu, Silvio Ricardo Lins de Melo, médico veterinário do Frigorífico Bandeira Ltda., autorizo a liberação de 140 (cento e quarenta) elementos dentários bovinos – incisivos inferiores – solicitados pelas pesquisadoras Bruna Wanderley Braga, Maria Heloisa Martins e Priscilla Chaves Bandeira Veríssimo de Souza, regularmente matriculadas na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), para utilização experimental em Projeto de Pesquisa *in vitro* intitulado **USO DE FLUORETOS NA PREVENÇÃO DO AUMENTO DA RUGOSIDADE E MANCHAMENTO DENTÁRIO POR VINHO**, estando o mesmo sob orientação da Profª. Drª. Daene Patrícia Tenório Salvador da Costa e co-orientação do Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes.

Esses dentes serão obtidos dos maxilares de animais já abatidos, sendo assim, concordei com essa doação por não infringir o Conselho de Ética e Pesquisa com Animais do nosso país e nem tampouco o Código de Defesa e Proteção dos Direitos dos Animais.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito da forma do manuseio desse material de estudo, ficando claro para mim quais são os propósitos da pesquisa e que minha participação é isenta de despesas.

---

Assinatura do Médico Veterinário  
Silvio Ricardo Lins de Melo  
Médico Veterinário  
Nº de Controle Adm. CIS / E 001  
CRMV 1.012.1182

---

Assinatura da Pesquisadora Principal

Profª Drª Daene Tenório Costa  
Méd. Veta. Pós-grad. em Cirurgia Bucal Facial  
SAPE: 283843 / CRMV-PE 690  
Paulista, 04 de junho de 2019.