

NATÁLIA NASCIMENTO ODILON

Avaliação *in vitro* do efeito de dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* sobre a cor, rugosidade e massa no esmalte dentário bovino

SALVADOR

2018

NATÁLIA NASCIMENTO ODILON

Avaliação in vitro do efeito de dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* sobre a cor, rugosidade e massa no esmalte dentário bovino

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientadora: Profa. Dra. Elisângela de Jesus Campos.

Co-Orientador: Prof. Dr. Roberto Paulo Correia de Araújo.

SALVADOR – BA
2018

Ficha Catalográfica: Keite Birne de Lira CRB-5/1953

Odilon, Natália Nascimento

Avaliação *in vitro* do efeito de dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* sobre a cor, rugosidade e massa no esmalte dentário bovino./
[Manuscrito]. Natália Nascimento Odilon. Salvador, 2018.
66f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Elisângela de Jesus Campos.

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Paulo Correia de Araújo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2018.

1. *Blue covarine*. 2. Abrasivos. 3. Dentifrícios 4. Branqueamento Dentário.
- I. Campos, Elisângela de Jesus. II. Araújo, Roberto Paulo Correia de.
- III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciência da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.
- IV. Título

CDD – 617.6 21. ed.

NATÁLIA NASCIMENTO ODILON

Avaliação *in vitro* do efeito de dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* sobre a cor, rugosidade e massa no esmalte dentário bovino

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia.

Aprovada em: 13/12/2018

Elisângela de Jesus Campos _____

Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia,
Universidade Federal da Bahia

Roberto Paulo Correia de Araújo _____

Doutor em Odontologia pela universidade Federal da Bahia
Universidade Federal da Bahia

Max José Pimenta Lima _____

Doutor em Medicina e saúde pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública,
Universidade Federal da Bahia

Fábio Correia Sampaio _____

Doutor em Cariologia pela Universidade de Oslo,
Universidade Federal de Paraíba

Dedico à minha orientadora, Elisângela de Jesus Campos, por ter sido a idealizadora deste trabalho, e ser um exemplo de dedicação à profissão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser o mestre que me guia e concede todas as bençãos e proteções na minha vida.

À minha orientadora Prof. Dra. Elisângela de Jesus Campos, pelo amparo e idealização deste trabalho, bem como pelos ensinamentos e dedicação, me auxiliando em todos os momentos da realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Roberto Paulo Correia de Araújo, por me conceder a oportunidade de participar do programa Processos interativos dos órgãos e sistemas e orientar sobre a melhor linha de pesquisa a ser seguida.

Ao Instituto de Ciências de Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS-UFBA) por conceder os insumos necessários para realização da pesquisa no laboratório de Bioquímica oral.

Ao professor Max José Pimenta Lima, que me auxiliou na confecção dos corpos de prova e me orientou nas etapas da pesquisa. Sem a sua ajuda seria muito mais difícil.

Aos bolsistas do Laboratório de Bioquímica Oral (LBO), Letícia Souza, Ana Carolina Cunha, Pedro Oliveira e Hannah Simões, que participaram da realização dos experimentos. Além disso, a companhia de vocês foi essencial para tornar menos exaustiva a longa jornada no laboratório durante a pesquisa. Desenvolvi um grande carinho por todos.

Aos meus colegas de pós-graduação, que se tornaram grandes amigos. Essa jornada foi muito mais fácil ao lado de vocês. Em especial, à Rebeca Vaz que está ao meu lado desde a residência. Obrigada pelo companheirismo.

À minha amiga Ingrid Grazielle Souza, por mesmo longe está presente na minha vida, sempre ouvindo meus desabafos e me aconselhando.

Ao meu noivo Igor Torres de Queiroz, que sempre esteve ao meu lado, compartilhando minhas alegrias e me apoiando nos momentos difíceis. Obrigada por fazer parte da minha vida e sempre me incentivar a ser uma pessoa melhor.

Aos meus irmãos, pelo o apoio e carinho em todas as etapas da minha vida.

Aos meus pais, por serem tudo na minha vida. Obrigada paizinho pelas orientações e ensinamentos, por ser minha fonte de inspiração. Obrigada mãezinha por cuidar de mim, fazendo tudo que estiver ao seu alcance para me deixar feliz, e por ser minha companheira de todas horas. Tudo que consegui até hoje devo a vocês.

Odilon, Natália Nascimento. Avaliação *in vitro* do efeito de dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* sobre a cor, rugosidade e massa no esmalte dentário bovino. 2018. 66f. il. Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas- Instituto de Ciência da Saúde, Universidade Federal da Bahia.

RESUMO

Introdução: O *blue covarine* é um agente branqueador que promove mudanças ópticas na superfície dos dentes, associado aos abrasivos dos dentifrícios, colaborando para o branqueamento dentário. **Objetivo:** Determinar as alterações de cor, rugosidade e massa do esmalte bovino após escovação simulada com dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* nos tempos 6, 12 e 24 meses. **Materiais e métodos:** 80 corpos de prova (CPs) foram divididos em 8 grupos (n = 10): Grupo controle (GC-água) e 7 grupos-teste (GT1-Colgate Total 12, GT2-Oral-B 3D White Perfection, GT3-Colgate Luminous Instant White, GT4-Close Up White Diamond Attraction, GT5-Close Up White-Glacier Fresh, GT6-Sorriso Xtreme White, GT7-Colgate Luminous White Advanced). Os CPs foram escurecidos com café e submetidos a escovação simulada por 6, 12 e 24 meses. As avaliações de cor, rugosidade e massa foram realizadas após cada período de escovação. **Resultados:** Nenhum dentifrício teste promoveu alterações significativas na rugosidade e massa dos CPs, contudo, quando comparados ao GC todos promoveram branqueamento significativo. A comparação dos grupos testes não demonstrou diferença significativa na variação de cor entre GT1, GT2, GT3, GT5, GT6 e GT7 nos tempos estudados. O GT4 apresentou comportamento variável de acordo com o tempo, não diferindo estatisticamente de GT3 aos 6, 12 e 24 meses, de GT6 aos 6 e 12 meses e de GT7 aos 12 meses. **Conclusão:** O efeito branqueador dos dentifrícios contendo *blue covarine*, após 2 anos de escovação, parece estar relacionado principalmente com a sua associação aos agentes branqueadores mecânicos, que promoveram o polimento das superfícies dentárias.

Palavra-chave: *Blue covarine*. Abrasivos. Dentifrícios. Branqueamento dentário.

Odilon, Natália Nascimento. In vitro evaluation of the effect of bleaching dentifrices containing blue covarine on color, roughness and mass in bovine dental enamel. 2018. 66f. Master in Processos Interativos Dos Órgãos e Sistemas – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia.

ABSTRACT

Introduction: Blue covarine is a bleaching agent that produces optical changes on the surface of the teeth, associated with the abrasives of the dentifrice leading to tooth whitening. **Objective:** To determine the changes in colour, roughness and mass of the bovine enamel, after simulated brushing with dentifrices - containing blue covariate bleaching - for 6, 12 and 24 months. **Materials and methods:** 80 specimens were divided into 8 groups (n = 10): Control group (CG-water) and 7 test groups (TG1-Colgate Total 12, TG2-Oral-B 3D White Perfection, TG3 -Colgate Luminous Instant White, TG4-Close Up White Diamond Attraction, TG5-Close Up White Now-Glacier Fresh, TG6-Sorriso Xtreme White, TG7-Colgate Luminous White Advanced). The specimens were stained with coffee and subjected to simulated brushing for 6, 12 and 24 months. The colour, roughness and mass evaluations were performed after each brushing period. **Results:** No dentifrice test produced significant alterations in the roughness and mass of the specimens, however, when compared to CG, all of them produced significant whitening. The comparison of the test groups did not show a significant difference in the colour variation between TG1, TG2, TG3, TG5, TG6 and TG7 in the study. The TG4 presented a variable behavior according to time, not statistically differing from TG3 at 6, 12 and 24 months, neither from TG6 at 6 and 12 months nor from TG7 at 12 months. **Conclusion:** The whitening effect of dentifrices containing *blue covarine*, after long periods of brushing, seems to be related mainly to association with mechanical bleaching agents, which, despite abrasives, did not damage the dental structure.

Keyword: Blue covarine. Abrasives Dentifrices. Teeth whitening.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Descrição dos dentifrícios testados.	25
Quadro 2	Divisão dos grupos controle e testes de acordo com os dentifrícios testados.	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema da percepção da cor (PORTELA, 2015).	19
Figura 2	Representação do CIELAB (SANDS, 2013).	20
Figura 3	Estrutura molecular do <i>blue covarine</i> (JOINER et al., 2008).	22
Figura 4	(A) Secção da raiz do incisivo bovino em cortadeira de precisão. (B) Sequência de preparo e corte dos corpos de prova.	27
Figura 5	Pesagem do dentifrício na balança de precisão para preparo da solução.	29
Figura 6	Medição do pH da solução do dentifrício 1:2.	29
Figura 7	Posicionamento e lavagem dos corpos de prova em cuba ultrassônica.	30
Figura 8	Máquina de escovação simulada.	31
Figura 9	Avaliação da rugosidade em 4 direções.	32
Figura 10	Balança de precisão modelo.	32
Figura 11	Espectrofotômetro Vita easysshade.	33
Figura 12	Fotografia em lupa estereoscópica (10x) da superfície de um corpo de prova de cada grupo estudado, após diferentes etapas do experimento. (A) escurecimento com café; (B) após 6 meses de escovação; (C) após 12 meses de escovação; (D) após 24 meses de escovação do experimento.	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Rugosidade dos diferentes grupos experimentais em função do tempo.	36
Gráfico 2	Massa dos diferentes grupos experimentais em função do tempo.	38
Gráfico 3	ΔE dos diferentes grupos experimentais em função do tempo.	40
Gráfico 4	Porcentagem de dentes com variação de pelo menos 3 no ΔE em função do grupo para cada intervalo de tempo.	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Mediana (mínimo; máximo) da rugosidade em função do grupo tempo	37
Tabela 2	Mediana (mínimo; máximo) da massa em função do grupo e do tempo	39
Tabela 3	Mediana (mínimo;máximo) do ΔE em função do grupo para cada intervalo de tempo	41
Tabela 4	Frequência (porcentagem) de dentes $\Delta E \geq 3$ em função do grupo para cada intervalo de tempo	43
Tabela 5	Média do pH das soluções dos dentifrícios.	44

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CIE	<i>Comission Internaciole L' claire</i>
CIELAB	Espaço tridimensional das cores
L*	Luminosidade
a*	Cor no eixo verde-vermelho
b*	Cor no eixo azul-amarelo
ΔE	Delta de diferença de cor
ADA	American Dental Association
CP	Corpo de prova
RDA	Radioactive Dentin Abrasion

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	18
3	REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1	COR DO DENTE	19
3.2	COLORIMETRIA	20
3.3	AGENTES COM AÇÃO BRANQUEADORA	21
3.4	DENTIFRÍCIOS CONTENDO <i>BLUE COVARINE</i> E ABRASIVOS	22
4	MATÉRIAS E MÉTODOS	25
4.1	CÁLCULO AMOSTRAL	26
4.2	SELEÇÃO E LIMPEZA DAS UNIDADES DENTÁRIAS	27
4.3	PREPARO DOS CORPOS DE PROVA	27
4.4	ESCURECIMENTO DOS CORPOS DE PROVA	29
4.5	PREPARO DAS SOLUÇÕES DE DENTIFRÍCIOS	29
4.6	LAVAGEM E LIMPEZA DOS CORPOS DE PROVA.	30
4.7	TESTE DE ABRASÃO	30
4.8	AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE	31
4.9	AVALIAÇÃO DA MASSA	32
4.10	AVALIAÇÃO DE COR	32
4.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
5	RESULTADOS	34
5.1	RUGOSIDADE	36

5.2	MASSA	38
5.3	COR	40
5.4	pH	44
6	DISCUSSÃO	45
7	CONCLUSÃO	52
8	REFERÊNCIAS	53
	APÊNDICE A- Artigo.	57
	ANEXO A- Artigo aceito pela Revista de Odontologia da UNESP.	59
	ANEXO B- Lei de regulamentação dos procedimentos para uso científico de animais.	60

1 INTRODUÇÃO

O escurecimento dentário é uma condição que apesar de não comprometer diretamente a saúde do indivíduo pode afetar relacionamentos interpessoais e promover uma autoimagem negativa ¹. Estudos psicofísicos sobre a cor do dente, através da avaliação de imagens de terceiros, demonstraram que pessoas com dentes mais brancos obtiveram julgamentos de traços de personalidades mais positivos, com maior competência social, intelectual e satisfação nos relacionamentos ^{2,3}. Tais fatores, aliados à busca pela estética atual, tornaram a cor do dente uma das queixas odontológicas mais comuns, levando ao aumento da procura pelo clareamento dental ^{4,5}.

A cor dos dentes é determinada pelos efeitos combinados de cores intrínsecas e extrínsecas na sua estrutura. A cor intrínseca está associada às propriedades de dispersão e absorção de luz do esmalte e da dentina, enquanto a cor extrínseca está associada à adsorção de cromógenos sobre a superfície do esmalte e, em particular, sobre o revestimento da película adquirida salivar ^{6,7}. Atualmente, estão disponíveis diferentes métodos de clareamento dentário com diferentes agentes clareadores, concentrações e formas de aplicação, que agem na remoção das manchas dos dentes. Os produtos farmacêuticos, o clareamento caseiro supervisionado pelo dentista e o clareamento realizado em consultório odontológico são as técnicas mais utilizadas para atender a demanda dos pacientes por dentes mais brancos ^{4,8}.

Os produtos farmacêuticos englobam os dentifrícios e enxaguantes bucais, que podem apresentar ação branqueadora e/ou clareadora. O branqueamento dentário está baseado na remoção mecânica das manchas extrínsecas do esmalte, através de agentes branqueadores mecânicos abrasivos (sílica, carbonato de cálcio e fosfatos) e/ou através da ação do agente branqueador óptico *blue covarine*. Já o clareamento ocorre através dos agentes branqueadores químicos (agentes oxidantes), como peróxido de hidrogênio, que quebram as ligações das partículas orgânicas dos pigmentos, removendo-as da superfície do dente ^{4,7,8}.

Os dentifrícios branqueadores são os produtos farmacêuticos mais utilizados para tornar os dentes mais brancos. Atualmente, os dentifrícios possuem formulações melhoradas no que diz respeito às propriedades físicas e químicas de limpeza. Alguns dentifrícios branqueadores usam o *blue covarine*, um corante azul que promove mudanças ópticas nas superfícies dos dentes através do recobrimento de toda superfície

do esmalte, para este fim. Além disso, esses dentifrícios são compostos por sílica, o abrasivo mais comumente utilizado, que auxilia na remoção e prevenção das manchas extrínsecas^{4,8,9,10}.

Dentifrícios contendo *blue covarine* são relativamente novos no mercado e informações sobre a sua eficácia em dentes escurecidos por pigmentos orgânicos, bem como as suas repercussões na estrutura do esmalte, como rugosidade e perda de massa, pelo uso prolongado ainda são limitadas na literatura. Desta forma, é importante o estudo mais extensivo dessa recente tecnologia que tem sido utilizada nas formulações dos dentifrícios branqueadores.

Uma vez que o clareamento da cor do dente obtido com o uso de dentifrícios branqueadores possivelmente ocorra devido à remoção de pigmentos e manchas extrínsecas, assim como pela deposição de agentes ópticos (*blue covarine*), as mudanças de coloração dos dentes podem não corresponder às expectativas do paciente. Além disso, as possíveis alterações estruturais promovidas por estes dentifrícios na superfície dentária, como rugosidade e perda de massa, são parâmetros importantes a serem considerados em função do uso diário desses produtos. Assim, acredita-se que os resultados do presente estudo possam além de informar, influenciar positivamente a qualidade da orientação odontológica dada aos pacientes, uma vez que as necessidades são individuais e os cirurgiões-dentistas desempenham um papel importante na seleção e indicação do dentifrício mais adequado a cada caso.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

- Avaliar *in vitro* o efeito do uso de dentifrícios com ação branqueadora contendo *blue covarine* sobre o esmalte dentário bovino submetido a processo de escurecimento artificial.

2.2. Objetivos específicos:

- Determinar a alteração de cor, rugosidade e massa do esmalte dentário bovino após escovação simulada por 6, 12 e 24 meses com dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine*.
- Comparar o efeito branqueador de diferentes dentifrícios sobre a superfície do esmalte dentário bovino após escovação simulada por 6, 12, 24 meses.
- Determinar o pH de soluções de dentifrícios de ação branqueadora e convencional.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O desejo pelo clareamento dentário aumentou consideravelmente entre a população adulta. Os principais fatores que levam as pessoas a realizarem ou despertarem o desejo pelo clareamento dentário são visitas regulares ao dentista e a autopercepção da cor do dente ^{1,4}. Nas diferentes populações adultas a insatisfação com a cor dos dentes varia entre 19,6% a 65,9%. Desta forma, paralelamente a outras técnicas de clareamento, o mercado de dentifrícios branqueadores cresceu consideravelmente nos últimos anos para atender esta demanda ¹¹.

3.1 COR DO DENTE

A cor é um fenômeno perceptual, logo cada indivíduo possui uma percepção própria da cor de um determinado objeto ^{12,13}. Os três principais elementos que influenciam a cor são: a luz, o objeto e observador ⁶.

A luz é uma onda, que consiste em uma radiação eletromagnética com diferentes espectros, ordenando diferentes tipos de distribuição de energia na superfície de um objeto em função do comprimento de onda. A luz visível possui comprimentos de ondas que variam entre 360-780 nm. As propriedades do objeto de reflexão e absorção da luz são os principais fenômenos para percepção da sua cor. Já o observador visualiza a cor através de fotorreceptores, que são células localizadas na retina que absorvem a luz quando ela atinge os olhos, convertendo-a no sinal que será interpretado pelo cérebro em função do comprimento de onda emitido ¹⁵ (Figura 1).

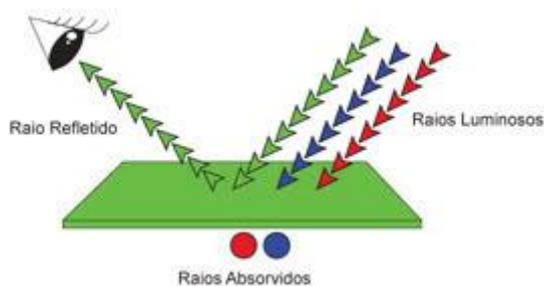


Figura 1-Esquema da percepção da cor (PORTELA, 2015).

A *Comission Internationale de l'Eclairage* (CIE), com objetivo de padronizar internacionalmente os critérios da colorimetria, definiu a cor em três dimensões:

luminosidade ou valor, que é a luminosidade relativa da cor e compreende a quantidade de cinza desta; a matiz, sendo a cor propriamente dita do objeto, como verde, vermelho, azul e amarelo; e o croma que é a concentração ou intensidade da matiz^{16,17}.

No âmbito da Odontologia, a cor do dente é originada de quatro matizes de base: amarelo-laranja, branco, azul e âmbar, com graus distintos de saturação e luminosidade. Como o esmalte possui uma característica mais translúcida, a dentina exerce papel fundamental na determinação da cor do dente. A pigmentação dentária, por outro lado, decorre de manchas intrínsecas e/ou extrínsecas na sua estrutura que resultam na alteração da reflexão e absorção da luz no esmalte e/ou na dentina^{6,18,19}.

O manchamento intrínseco pode ser causado por defeitos congênitos; envelhecimento natural dos dentes; história de trauma; exposição a medicamentos, como tetraciclina na infância ou no desenvolvimento dentário. O manchamento extrínseco, por sua vez, é oriundo de pigmentação na película salivar adquirida, causado por tabagismo, hábitos alimentares e/ou biofilme dentário^{7,9}. Assim, a cor final do dente é determinada pelos efeitos combinados de cores intrínsecas e extrínsecas na sua estrutura⁶.

3.2 COLORIMETRIA

O espaço tridimensional de cores (CIELAB) foi instituído pela CIE em 1976 com finalidade de dar representação às percepções dos estímulos coloridos. O CIELAB é definida por três medidas: Luminosidade (L^*) que varia entre 0 a 100; cores nos eixos vermelho-verde (a^*), que varia de -80 a +80, e amarelo-azul (b^*), que varia de -80 a +80 (Figura 2). Assim, quanto maior o valor de L^* e menor os valores de a^* e b^* mais claro e branco será o dente^{17,18}.

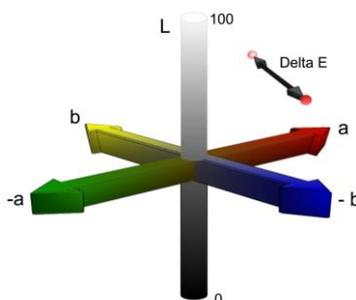


Figura 2- Representação do CIELAB (SANDS, 2013).

Valores positivos de b^* indicam tons amarelados e os negativos, tons azuis, já valores próximos ao zero indicam tons mais neutros, próximos ao branco e cinza.

Assim, uma vez que o clareamento dentário ocorre pela redução do amarelamento do dente, a alteração do valor de b^* torna-se o parâmetro mais importante para a percepção do branqueamento^{18,20,21,22}.

O CIELAB é considerado o padrão clássico para comparar quantitativamente a diferença de cor (ΔE). Quanto maior o valor do ΔE , mais perceptível será a diferença de cor ao olho humano^{23,24}. Em condições de iluminação padronizada, a diferença de cor detectada pelo o olho humano é de 1 ΔE , isso significa que 50% dos observadores notarão a diferença e 50 % não^{25,26}. Em relação às condições clínicas não há um consenso sobre o valor perceptível do ΔE , encontram-se na literatura valores que variam entre 2,3 a 3,7^{25,26,27}. Contudo, a ADA considera um branqueamento efetivo quando o ΔE é de pelo menos 3²⁴.

A aplicação da ciência da cor na odontologia fez com que a mensuração da cor dos dentes pudesse ser feita por diversas técnicas, como guias de cores, espectrofotômetros, colorímetros, espectroradiômetros e câmeras digitais com sistemas de imagens. Sendo mais utilizados nas pesquisas odontológicas os espectrofotômetros e as câmeras digitais^{6,28}.

3.3 AGENTES COM AÇÃO BRANQUEADORA

Historicamente existem basicamente dois mecanismo de ação para tornar os dentes mais brancos, o branqueamento dentário que se refere à remoção mecânica das manchas no esmalte através de agente abrasivos, e o clareamento químico, que ocorre pela a ação de agentes oxidantes em pequenas concentrações que quebram as ligações das partículas orgânicas dos pigmentos, removendo-as da superfície do dente^{4,7,8}. Além desses, existe um novo mecanismo denominado de branqueamento óptico^{9,14}.

Os clareamentos caseiro e de consultório possuem o mesmo mecanismo de ação, ambos são agentes branqueadores químicos, pois possuem agentes oxidantes, como peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida, que penetram na superfície do dente e se ligam aos pigmentos de cadeias mais simples e promovem uma reação redox, quebrando essas moléculas e removendo-as da estrutura dentária²⁹.

O agente branqueador químico mais utilizado é o peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações, a depender da técnica utilizada^{14,29}. No clareamento de consultório o peróxido de hidrogênio é utilizado em concentrações que variam entre 15

a 38%. Já o clareamento caseiro utiliza concentrações mais baixas de peróxido de hidrogênio, entre 3 a 10%, ou utiliza peróxido de carbamida (10 a 22%)²⁹.

Além dos clareamentos convencionais, supervisionados pelo cirurgião-dentista, estão disponíveis no mercado produtos farmacêuticos de livre acesso ao consumidor, tais como enxaguantes e dentifrícios branqueadores. Os enxaguantes bucais contém apenas agentes químicos em baixas concentrações (1-2%) para promoção do branqueamento ²⁹.

Os dentifrícios, por sua vez, possuem diferentes mecanismo que promovem o branqueamento dentário: agentes químicos, agentes abrasivos (sílica hidratada, carbonato de cálcio, fosfato dicálcio dihidratado, pirofosfato de cálcio, alumina, perlita e bicarbonato de sódio) e o agente óptico *blue covarine*. No entanto, os agentes químicos são utilizados em baixas concentrações, os agentes abrasivos variam quanto à forma, tamanho e concentração, já o *blue covarine* promove uma alteração da percepção da cor de acordo com a qualidade da camada que recobrirá a superfície do esmalte ^{6,10}.

3.4 DENTIFRÍCIOS CONTENDO *BLUE COVARINE* E ABRASIVOS

Atualmente, estão disponíveis no mercado diferentes marcas de dentifrícios branqueadores que utilizam agentes branqueadores óptico (*blue covarine*) e mecânicos (abrasivos). O *blue covarine* é um pigmento azul e sua estrutura consiste em um anel de ftalocianina ligado fortemente com um íon de cobre central (Figura 3). Já, o abrasivo mais utilizado nos dentifrícios, a sílica hidratada, auxilia na remoção e prevenção das manchas extrínsecas ^{4,6,8,9,10}.

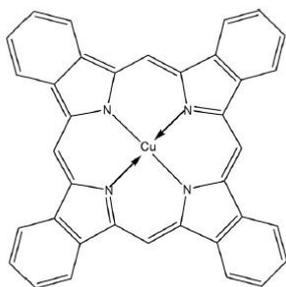


Figura 3- Estrutura molecular do *blue covarine* (JOINER et al., 2008).

O mecanismo de ação do branqueamento óptico ocorre através da deposição de uma fina camada do pigmento *blue covarine* sobre o esmalte dentário causando mudanças de cor que induz ao aumento da medição e percepção da brancura dentária, pois promove uma mudança da cor do dente, de amarelo para a azul, diminuindo assim

o valor de b^* e, conseqüentemente, fazendo com que o dente pareça mais branco imediatamente após a escovação com o dentifrício^{17,18}. A qualidade e espessura dessa camada irá alterar a cor natural do dente de castanho-amarelado para branco-azulado, considerado mais agradável visualmente e mais estético^{9,30,31}.

Em relação à sílica, o processo de limpeza abrasiva é influenciado pela forma, tamanho, dureza, concentração das partículas e carga aplicada durante a escovação⁷. Além da capacidade mecânica de limpeza, abrasivos com partículas arredondadas também ajudam a polir o esmalte e, assim, aumentar seu brilho e aparência branca^{32,33}.

Estudos afirmam que os dentifrícios contendo *blue covarine* e sílica são projetados para o uso diário, produzindo um efeito instantâneo branqueador de até 08 horas de duração após o seu uso. As formulações que contém essa associação, além de remover e controlar as manchas extrínsecas, não promovem o aumento da abrasão no esmalte e dentina, comparado com cremes dentais de uso convencional contendo apenas sílica. Assim, os usuários destes cremes dentais terão o branqueamento óptico imediato e progressivo^{8,18}.

Estudos *in vitro* relataram resultados positivos acerca do branqueamento obtido com o *blue covarine*^{10,11,18,21}, contudo ainda não há comprovação desses mesmos efeitos sob situações de maior desafio estético, como dentes muito amarelados ou cinza^{9,30}.

Estudos *in vitro* realizados para verificar a eficácia de dentifrícios contendo abrasivos e agentes químicos de clareamento na redução da descoloração extrínseca do esmalte dentário demonstrou que os dentifrícios clareadores não superaram o creme dental de uso convencional na remoção de manchas extrínsecas^{9,30,31,34}. Contudo, pesquisa realizada para avaliar os efeitos do branqueamento obtido imediatamente após a escovação com dentifrícios à base de sílica contendo *blue covarine*, *in vitro* e *in vivo*, demonstrou uma redução estatisticamente significativa na cor do dente e melhora na sua brancura após a escovação^{11,18}.

A variedade de dentifrícios disponíveis no mercado atualmente com a presença de agentes branqueadores mecânicos, químicos e ópticos em suas formulações permite que os pacientes usem um dentifrício adaptado às suas necessidades e desejos individuais. Contudo, não há consenso na literatura sobre o melhor tipo de agente

branqueador ou qual a melhor associação entre eles que seja capaz de fornecer os benefícios cosméticos esperados. Assim, existe a necessidade de uma melhor compreensão da composição e dos benefícios dos dentifrícios branqueadores, especialmente aqueles que prometem ação após poucos períodos de uso.

4 MATERIAIS E METODOS

Trata-se de uma pesquisa experimental *in vitro*, controlada e randomizada, realizada com espécimes obtidos a partir de coroas de incisivos bovinos. Por se tratar de dentes bovinos não foi necessária a submissão da pesquisa a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), uma vez que a Lei 11.794/2008 regulamenta as atividades ou procedimentos com animais vertebrados vivos. Portanto, o uso de cadáveres ou de partes deles (órgãos ou tecidos) na pesquisa ou no ensino não é regulado por essa lei (Anexo B).

Os corpos de prova foram submetidos a processo de escurecimento artificial com café solúvel e a ciclos de escovação correspondentes a 6, 12 e 24 meses em uma máquina de escovação simulada, para posterior avaliação dos efeitos sobre a cor, rugosidade e massa do esmalte bovino promovido pelos dentífrícios de ação branqueadora. A seleção dos dentífrícios baseou-se na sua composição, função e marcas comerciais (Quadro1), sendo adquiridos na cidade de Salvador, no período de Junho a Agosto de 2018, após pesquisa indireta junto aos supermercados e farmácias.

Quadro 1- Descrição dos dentífrícios testados.

Dentífrício	Composição	Fabricante
Colgate Total 12	Fluoreto de sódio 0,32% (1450 ppm de Flúor), triclosan 0,3%, água, sorbitol, sílica hidratada, laurilsulfato de sódio, PVM/MA, sabor, bcarragenina, hidróxido de sódio, sacarina sódica, dióxido de titânio e limoneno.	Colgate-Palmolive
Sorriso Xtreme White Evolution	Água, Sílica Hidratada, Sorbitol, Glicerina, PEG-12, Trifosfato pentasódico, Tetrapotássio, Pirofosfato, Lauril Sulfato de Sódio, Aroma, Carboximetilcelulose, Cocoamidopropilbetaína, Fluoreto de Sódio (1450 ppm de Flúor), Sacarina Sódica, Goma Xantana, Hidróxido de Sódio, CI 74160 (<i>blue covarine</i>), CI 42090.	Colgate-Palmolive
Oral-B 3D White Perfection	Fluoreto de Sódio (1100 ppm de flúor), Glicerina, Sílica Hidratada, Hexametáfosfato de Sódio, Água, PEG-6, Aroma, Fosfato Trissódico, Lauril Sulfato de Sódio, Carragena, CocamidopropilBetaina, Mica (CI 77019), Sacarina Sódica, PEG-20M, Goma Xantana, Dióxido de Titânio (CI 77891), Sucralose,	Procter & Gamble (P&G)

	Limoneno e Pigmento Azul 15 (CI 74160).	
Colgate Luminous Instant White	Água, sílica hidratada, sorbitol, glicerina, PEG-12, trifosfato de pentasódio, pirofosfato de tetrapotássio, laurilsulfato de sódio, aroma, sabor, goma de celulosa, cocamidopropil betaína, sacarina sódica, goma xantána, fluoreto de sódio (1100 ppm de Flúor), hidróxido de sódio, hidroxipropil metilcelulosa, propilenglicol, polisorbato 80, mica, CI 74160, CI 77891, dióxido de titânio, CI 73360, CI 17200, CI 42051, eugenol.	Colgate-Palmolive
Close Up White Atraction Diamond	Sorbitol, água, sílica hidratada, PEG-32, lauril sulfato de sódio, goma de celulose, mica, fluoreto de sódio (1450 ppm), sacarina sódica, fosfato trissódio, copolímero PVM/MA, Fluorlogopite, CI 74160, dióxido de titânio, glicerina, hidantoína DMDM, Lectina, o-fenilfenol, sacarina sódica e óxido de estanho.	Unilever
Close Up White Now – Glacier Fresh	Sorbitol, Água, sílica Hidratada, Lauril Sulfato de Sódio, PEG-32, Aroma, Goma de Celulose, Fluoreto de Sódio (1450 ppm de flúor), Fosfato trissódico, Sacarina Sódica, PVM/MA Copolimero, CI 74160, Mica, Dióxido de Titânio e Limoneno.	Unilever
Colgate Luminous White Advanced	Peroxido de hidrogênio a 2%, Monofluorfosfato de Sódio (1000 ppm de flúor), Propileno Glicol, Pirofosfato de Cálcio, Glicerina, PEG/PPG-116/ Copolimero 66, PEG-12, PVP-Peroxido de Hidrogênio, PVP, Sílica, Aroma, PirofosfatoTetrassódico, Lauril sulfato de sódio, PirofosfatoDissódico, Monofluorfosfato de Sódio, Sacarina Sódica, Sucralose, BHT e Eugenol.	Colgate-Palmolive

4.1 CÁLCULO AMOSTRAL

A amostra foi dimensionada utilizando os programas Gpower* e R**, considerando o delineamento de medidas repetidas no tempo, com 8 grupos, poder do teste mínimo de 0,80 para os efeitos principais (grupo e tempo) e para a interação grupo

x tempo, com nível de significância de 5% e tamanho de efeito grande, chegando-se a um tamanho mínimo de 10 corpos de prova por grupo, totalizando 80 corpos de prova.

4.2 SELEÇÃO E LIMPEZA DAS UNIDADES DENTÁRIAS

Para a realização deste estudo, foram obtidas 100 unidades de incisivos bovinos adquiridos em abatedouros e selecionado 80 unidades para confecção dos corpos de prova. Os dentes foram limpos e após a remoção de todos os resíduos e tecidos moles foram armazenados em solução de timol a 0,1% em ambiente refrigerado até a confecção dos corpos de prova.

4.3 PREPARO DOS CORPOS DE PROVA

Inicialmente os dentes bovinos foram fixados e adaptados em cortadeira de precisão (modelo ELSAW, ElQuip®, São Paulo, SP, Brasil) e com auxílio de um disco de diamante (modelo ER04003 HC 4 x 0.012 x 1/2, ERIOS® equipamentos, São Paulo, SP, Brasil) foram seccionados separando-se coroa e raiz das unidades dentárias (Figura 4A). A partir das coroas, foram realizados cortes no sentido vestibulo-lingual para obtenção de 80 fragmentos (8mm x 8mm x 2 mm) (Figura 4B) que em seguida foram planificados em máquina de polimento Politriz metalográfica PL VO60 (Biopdi, São Carlos, SP, Brasil) na sua face vestibular com auxílio de discos de lixa d'água em uma sequência de granulação (320, 400, 600, 1200), para uniformização das superfícies, sem exposição de dentina segundo a metodologia de Oliveira³⁵.

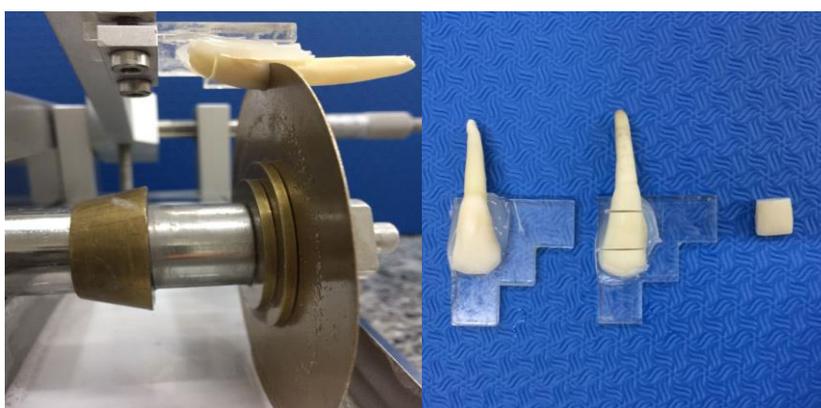


Figura 4- (A) Secção da raiz do incisivo bovino em cortadeira de precisão. (B) Sequência de preparo e corte dos corpos de prova.

O preparo dos corpos de prova foi finalizado após a sua fixação em resina ortoftálica, para auxiliar no manuseio dos espécimes durante o experimento. Após o polimento, os corpos de prova foram colocados na cuba ultrassônica L-200 (Schuster® Ltda.) por 10 min para a remoção de possíveis resíduos do polimento. Ao final desta etapa os corpos de prova foram divididos de forma aleatória em 8 grupos (n=10) de acordo com o dentífrico utilizado (Quadro 2).

Quadro 2 – Divisão dos grupos controle e testes de acordo com os dentífricos testados.

	Solução	Agentes branqueadores		
		Mecânico	Químico	Óptico
Grupo controle	GC- Água	-	-	-
Grupos teste	GT1- Colgate Total 12	Sílica hidratada, Hidróxido de Sódio e Dióxido de titânio.	-	-
	GT2- Oral-B 3D White Perfection	Pirofosfato de Cálcio, Sílica hidrata, Dióxido de titânio e Hexametfosfato de Sódio.	-	<i>blue covarine</i>
	GT3- Colgate Luminous Instant White	Sílica hidratada e Dióxido de titânio.	-	<i>blue covarine e Corante azul 5.</i>
	GT4- Close Up White Atraction Diamond	Sílica hidratada, Dióxido de titânio e Óxido de estanho	-	<i>blue covarine</i>
	GT5- Close Up White Now – Glacier Fresh	Sílica hidratada e Dióxido de titânio.	-	<i>blue covarine</i>
	GT6- Sorriso Xtreme White	Sílica hidratada, Hidróxido de sódio e Pirofosfato.	-	<i>blue covarine e corante azul brilhante</i>

	GT7- Colgate Luminous White Advanced	Sílica hidratada e Pirofosfato de cálcio.	Peróxido de hidrogênio a 2%.	-
--	--------------------------------------	---	------------------------------	---

4.4 ESCURECIMENTO DOS CORPOS DE PROVA

Após o polimento, todos os corpos de prova foram mantidos imersos em solução de café solúvel (Nescafé, Nestlé, Brasil) a 37°C, durante 07 dias, com trocas diárias da solução, de acordo com a metodologia de Munchow³⁶. Para o preparo do café foram seguidas as instruções do fabricante.

4.5 PREPARO DAS SOLUÇÕES DE DENTIFRÍCIOS

Cada dentifrício foi pesado em uma balança de precisão modelo AY 220 (Shimadzu® do Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil) (Figura 5) e diluído na proporção de 1:2 em água destilada segundo metodologia de Tao¹⁸ e foi submetido à verificação de pH, em triplicata, através de pHmetro (Modelo 2000 Quimis® Aparelhos Científicos Ltda., São Paulo, Diadema, Brasil), (Figura 6) após calibração com soluções tampão de pH 4 e pH 7, previamente à escovação simulada.



Figura 5- Pesagem do dentifrício na balança de precisão para preparo da solução.



Figura 6- Medição do pH da solução do dentifrício 1:2.

4.6 LAVAGEM E LIMPEZA DOS CORPOS DE PROVA

Para avaliação da cor, peso e rugosidade superficial, os corpos de prova foram removidos da máquina de escovação, colocados na lavadora ultrassônica L-200 (Schuster® Ltda.) por 10 minutos com água destilada, para a limpeza de qualquer resíduo de dentifrício (Figura 7) e retirados com o auxílio de uma pinça clínica e secos, em seguida foram colocados em seus respectivos recipientes individuais, após cada intervalo de escovação simulada.



Figura 7- Posicionamento e lavagem dos corpos de prova em cuba ultrassônica.

4.7 TESTE DE ABRASÃO

Para a realização do teste de abrasão foram realizados ao todo 100.000 ciclos de escovação simulada, o que corresponde a 2 anos de escovação. A velocidade da máquina de escovação simulada (ElQuip®, São Paulo, SP, Brasil) é de 4,5 ciclos/seg em movimentos de vai-e-vem com 10 braços (Figura 8), onde se acoplam as “cabeças” das escovas dentárias de cerdas macias em forma de V (Classic Clean/Colgate-Palmolive Company®, São Paulo, Brasil). Na parte inferior do equipamento há uma barra de aço inoxidável com 10 cavidades que impede a movimentação dos corpos de prova e garante o contato dos mesmos com as cerdas das escovas. Primeiramente, cada corpo de prova foi posicionado na máquina, de acordo com o grupo correspondente, em cada uma das cavidades da barra de aço inoxidável de forma que toda a sua superfície estudada entrasse em contato íntimo com os tufo das escovas, previamente encaixadas,

de maneira uniforme. Cada corpo de prova possuía uma escova e uma seringa de 20 ml que injetava 0,4 ml da solução a cada 2 min. Foram analisados 3 intervalos de tempo: 6 meses (25.000 ciclos), 12 meses (50.000 ciclos) e 24 meses (100.000 ciclos); os corpos de provas foram trocados de posição na máquina a cada período de tempo estudado, de acordo com a metodologia de Oliveira ³⁵.



Figura 8- Máquina de escovação simulada.

4.8 AVALIAÇÃO DA RUGOSIDADE

A aferição da rugosidade superficial dos corpos de prova foi realizada através do uso de rugosímetro (Modelo SJ 201 Mitutoyo®, Kawasaki, Japão) em diferentes etapas (Figura 9). A avaliação da rugosidade foi feita em quatro diferentes direções em cada corpo de prova, obtendo-se a média das quatro medições ao final, utilizado o cut-off de 0,8mm e o “N” (número de fragmentação da leitura) em 5, de forma que a ponta do sensor percorreu toda a extensão em linha reta do corpo de prova em cada direção. O parâmetro Ra foi utilizado, pois este registra as médias de picos e vales da rugosidade em micrômetros. Um único operador realizou todas as leituras de rugosidade no equipamento. A rugosidade superficial de cada corpo de prova foi avaliada antes da escovação simulada e após as escovações simuladas nos períodos de 6, 12 e 24 meses.

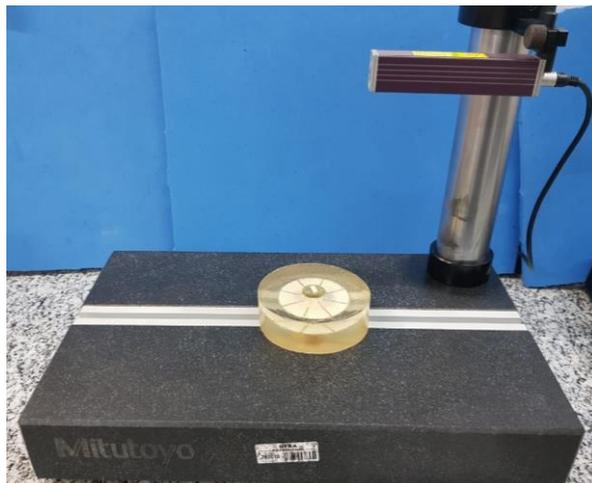


Figura 9- Avaliação da rugosidade em 4 direções.

4.9 AVALIAÇÃO DA MASSA

A massa (g) dos 80 corpos de prova foi medida em triplicata antes da escovação e nos intervalos de 6, 12 e 24 meses de escovação, utilizando-se uma balança de precisão modelo AY 220 (Shimadzu® do Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil), Figura 10.



Figura 10- Balança de precisão.

4.10 AVALIAÇÃO DE COR

A alteração de cor foi avaliada pelo Espectrofotômetro Easychade - Vita® (Figura 11), o qual fornece leituras no sistema CIE L* a* b*, através do qual as cores são definidas em três parâmetros: L* - luminosidade, que varia de 0 a 100, a* - vermelho-verde, que varia de -80 a +80, e b* - amarelo-azul, que varia de -80 a +80. Esse sistema também permite mensurar a diferença de cor entre duas amostras (ΔE) e

demonstra a quantidade de alteração de cor entre duas leituras. Foram obtidos os parâmetros das cores, antes do início do experimento, após o processo de escurecimento e após a simulação de escovação de 6, 12 e 24 meses.



Figura 11- Espectrofotômetro Vita easyshade.

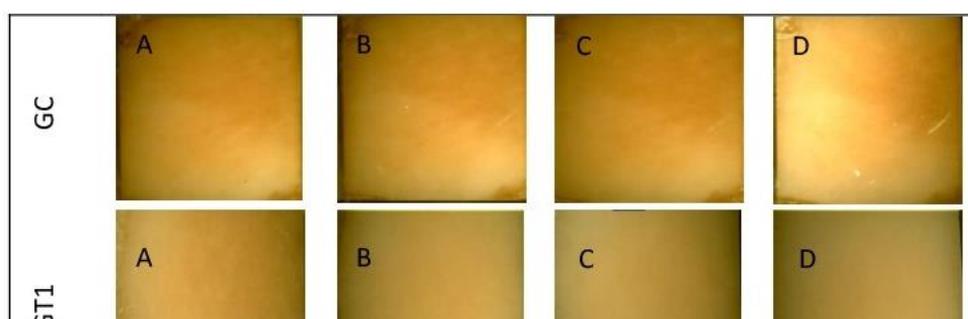
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise exploratória indicou que os dados não atendiam às pressuposições de uma análise paramétrica e foram analisados por modelos lineares generalizados. Os dados de massa seguiram o modelo de medidas repetidas no tempo. A rugosidade e as medidas de cor (valor L^* , valor a^* e valor b^*) também seguiram modelos de medidas repetidas, mas como apresentaram diferenças significativas entre os grupos no tempo inicial, apesar da padronização na obtenção dos corpos de prova, uma vez que eles foram obtidos de diferentes unidades dentárias, esse tempo foi considerado como uma covariável nesses modelos. Foram também calculados os ΔE s, nos diferentes intervalos de tempo e aplicados modelos lineares generalizados, já que os dados não atendiam às pressuposições da ANOVA. As frequências de espécimes com $\Delta E \geq 3$ em função do grupo, para cada intervalo de tempo, foram analisadas pelo teste Exato de Fisher. As análises foram realizadas no programa R, considerando o nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

Os resultados foram analisados a partir dos critérios de rugosidade, massa e variação de cor.

As superfícies dos corpos de prova dos grupos testados nas diferentes etapas do experimento podem ser observadas na Figura 12, através de lupa estereoscópica. Nas imagens A observa-se o registro dos corpos de provas após o escurecimento artificial com café solúvel, e as imagens B, C e D após o período de escovação simulada de 6, 12 e 24 meses, respectivamente. A partir da análise subjetiva das imagens é possível observar que a mudança de cor depois de 06 meses foi perceptível visualmente em todos os grupos testes.



5.1 RUGOSIDADE

Observa-se no e Gráfico 1 e Tabela 1 que não houve interação significativa entre os grupos e os tempos quanto a rugosidade ($p>0,05$) após os 24 meses de escovação. A rugosidade não variou significativamente a partir de 6 meses de escovação simulada, $p>0,05$. Contudo, pode-se observar os grupos que os grupos GT1 (Colgate Total 12), GT2 (Oral B 3D White Perfection), GT3 (Colgate Luminous Instant White) e GT7 (Colgate Luminous White Advanced) apresentaram rugosidade significativamente maior que os corpos de prova do controle negativo escovados com água ($p<0,05$). O Grupo GT3 (Colgate Luminous Instant White) apresentou rugosidade significativamente maior que os outros grupos, só não diferindo significativamente do grupo GT2 ($p>0,05$).

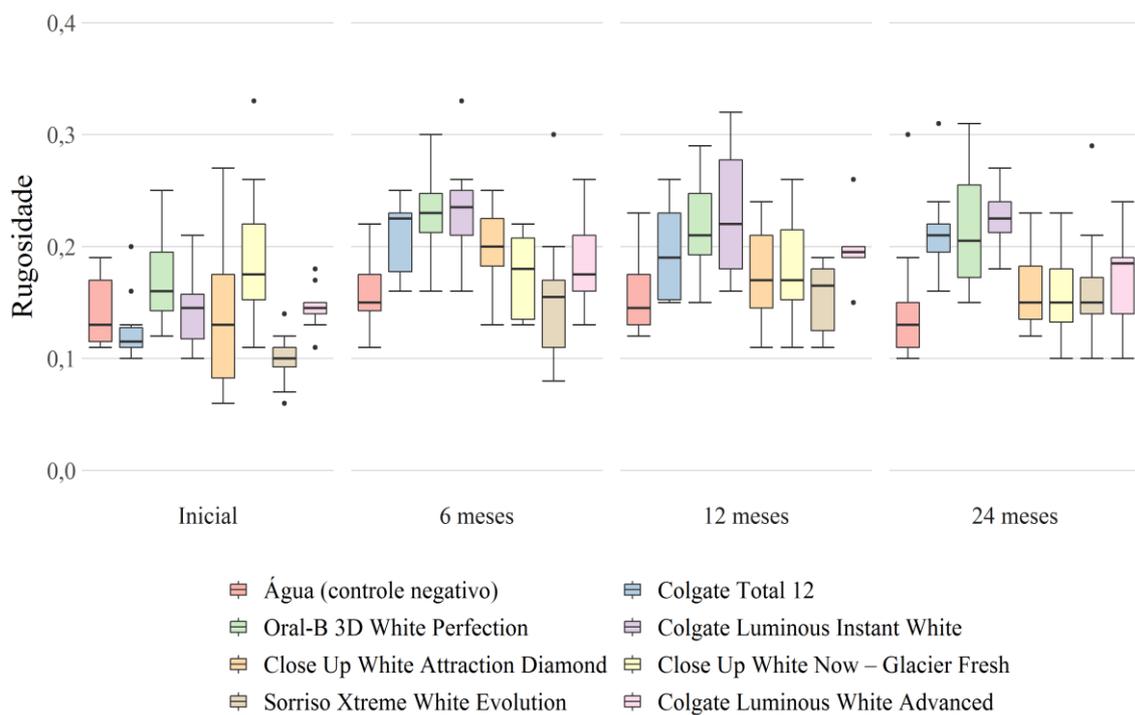


Gráfico 1- Rugosidade dos diferentes grupos experimentais em função do tempo.

Tabela 1- Mediana (valor mínimo e valor máximo) da rugosidade em função do grupo e do tempo.

Grupo	Tempo				
	¹ Inicial (covariável)	² 6 meses	³ 12 meses	⁴ 24 meses	
GC-Água	0,13 (0,11-0,19)	0,15 (0,11-0,22)	0,14 (0,12-0,23)	0,13 (0,10-0,30)	e
GT1- Colgate Total 12	0,12 (0,10-0,20)	0,22 (0,16-0,25)	0,19 (0,15-0,26)	0,21 (0,16-0,31)	bc
GT2-Oral-B 3D White Perfection	0,16 (0,12-0,25)	0,23 (0,16-0,30)	0,21 (0,15-0,29)	0,20 (0,15-0,31)	ab
GT3-Colgate Luminous Instant White	0,14 (0,10-0,21)	0,24 (0,16-0,33)	0,22 (0,16-0,32)	0,22 (0,18-0,27)	a
GT4-Close Up White Diamond Attraction	0,13 (0,06-0,27)	0,20 (0,13-0,25)	0,17 (0,11-0,24)	0,15 (0,12-0,23)	de
GT5-Close Up White Now – Glacier Fresh	0,18 (0,11-0,33)	0,18 (0,13-0,22)	0,17 (0,11-0,26)	0,15 (0,10-0,26)	de
GT6-Sorriso Xtreme White Evolution	0,10 (0,06-0,14)	0,16 (0,08-0,30)	0,16 (0,11-0,19)	0,15 (0,10-0,29)	de
GT7-Colgate Luminous White Advanced	0,14 (0,11-0,18)	0,18 (0,13-0,26)	0,20 (0,15-0,26)	0,18 (0,10-0,24)	cd
		A	A	A	

¹Antes da escovação, ² 25.000 ciclos, ³50.000 ciclos e ⁴100.000 ciclos. Letras distintas (maiúsculas na horizontal e miúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$). $p(\text{grupo})=0,0002$; $p(\text{tempo})=0,1579$; $p(\text{interação})=0,5766$

5.2 MASSA

A análise da perda de massa demonstrou que não houve diferença significativa entre os grupos e entre os tempos ($p>0,05$), Gráfico 2 e Tabela 2.

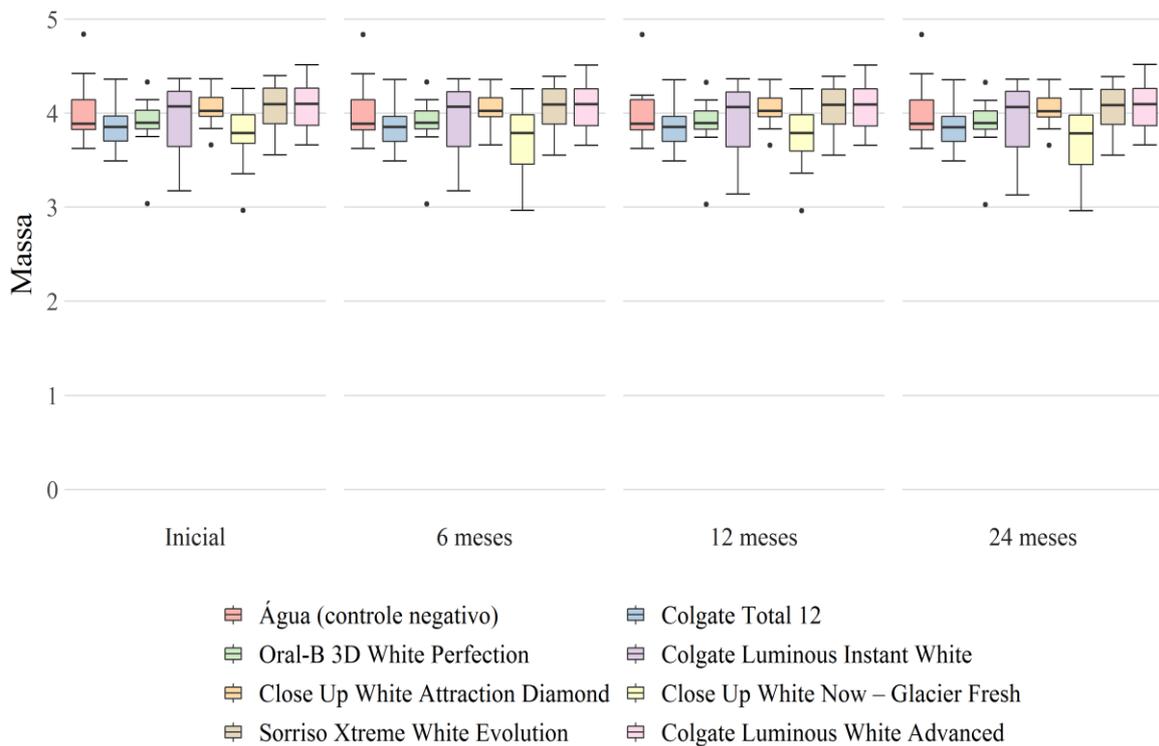


Gráfico 2 - Massa dos diferentes grupos experimentais em função do tempo.

Tabela 2- Mediana (valor mínimo-valor máximo) da massa em função do grupo e do tempo.

Grupo	Tempo				
	¹ Inicial	² 6 meses	³ 12 meses	⁴ 24 meses	
GC-água	3,89 (3,63-4,84)	3,89 (3,62-4,84)	3,89 (3,63-4,84)	3,89 (3,62-4,84)	A
GT1- Colgate Total 12	3,85 (3,49-4,36)	3,85 (3,49-4,36)	3,85 (3,49-4,35)	3,85 (3,49-4,35)	A
GT2-Oral-B 3D White Perfection	3,90 (3,04-4,33)	3,90 (3,03-4,33)	3,90 (3,03-4,33)	3,90 (3,03-4,33)	A
GT3-Colgate Luminous Instant White	4,07 (3,18-4,37)	4,07 (3,17-4,37)	4,06 (3,14-4,36)	4,06 (3,13-4,36)	A
GT4 Close Up White Diamond Attraction	4,02 (3,66-4,36)	4,02 (3,66-4,36)	4,02 (3,66-4,36)	4,02 (3,66-4,36)	A
GT5-Close Up White Now – Glacier Fresh	3,79 (2,97-4,26)	3,79 (2,97-4,26)	3,79 (2,96-4,26)	3,78 (2,96-4,26)	A
GT6-Sorriso Xtreme White Evolution	4,09 (3,56-4,40)	4,09 (3,55-4,39)	4,09 (3,55-4,39)	4,09 (3,55-4,39)	A
GT7-Colgate Luminous White Advanced	4,10 (3,66-4,52)	4,09 (3,66-4,51)	4,09 (3,66-4,51)	4,10 (3,66-4,52)	A
	A	A	A	A	

¹Antes da escovação, ² 25.000 ciclos, ³50.000 ciclos e ⁴100.000 ciclos. Mesmas letras (maiúsculas na horizontal e miúsculas na vertical) indicam falta de significância estatística (p>0,05). p(grupo)=0,2493; p(tempo)=0,2562; p(interação)=0,3150

5.3 COR

A análise da variação de cor (ΔE) nos intervalos de tempo de zero a 6 meses, zero a 12 meses e zero a 24 meses, demonstrou que todos os grupos testes apresentaram ΔE significativamente maior que o controle ($p < 0,05$), Gráfico 3, Tabela 3 O grupo GT4 (Close Up White Attraction Diamond) apresentou ΔE significativamente maior que os grupos GT1 (Colgate Total 12), GT2 (Oral-B 3D White Perfection), GT5 (Close Up White Now – Glacier Fresh) nos intervalos de 0 a 6, 0 a 12 e 0 a 24 meses e GT7 (Colgate Luminous White Advanced) nos intervalos de 0 a 6 e 0 a 24 meses, $p < 0,05$.

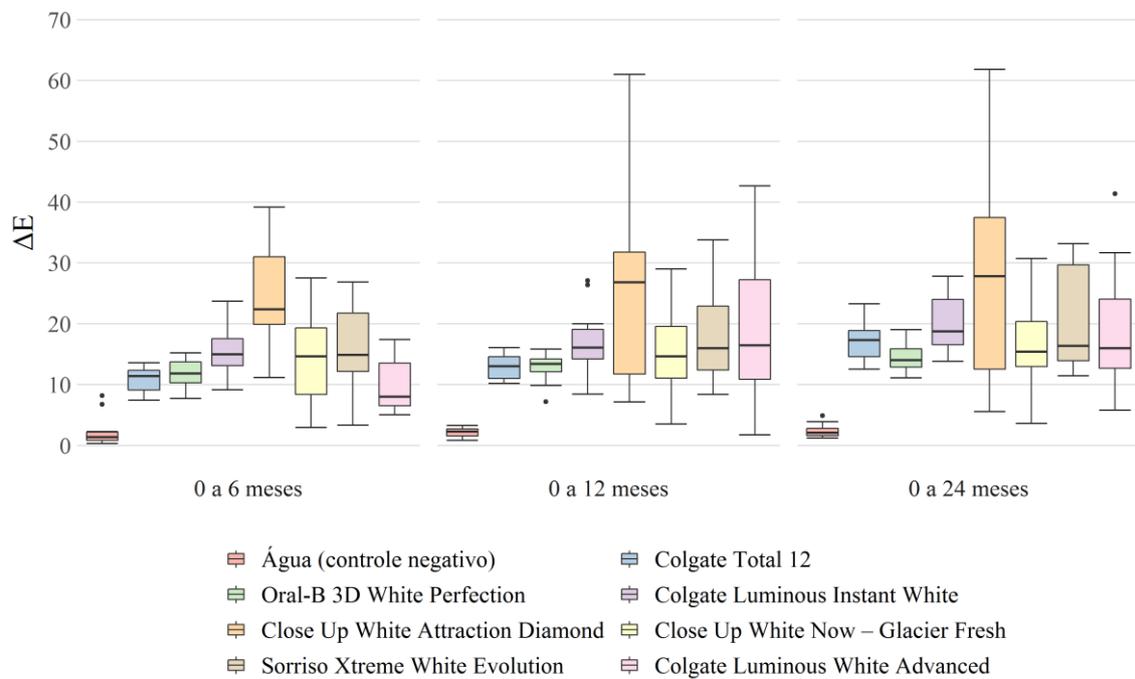


Gráfico 3- ΔE dos diferentes grupos experimentais em função do tempo.

Tabela 3- Mediana (mínimo; máximo) do ΔE em função do grupo para cada intervalo de tempo.

Grupo	Tempo		
	0 a 6 meses	0 a 12 meses	0 a 24 meses
GC-água	1,38 (0,33; 8,19) c	2,29 (0,86; 3,31) c	2,08 (1,21; 4,89) c
GT1- Colgate Total 12	11,40 (7,45; 13,61) b	13,02 (10,22; 16,09) b	17,33 (12,54; 23,30) b
GT2-Oral-B 3D White Perfection	11,82 (7,71; 15,21) b	13,43 (7,21; 15,84) b	14,05 (11,11; 19,05) b
GT3-Colgate Luminous Instant White	15,00 (9,14; 23,72) ab	16,06 (8,43; 27,09) ab	18,74 (13,82; 27,85) ab
GT4 Close Up White Diamond Attraction	22,37 (11,19; 39,18) a	26,83 (7,16; 61,01) a	27,84 (5,58; 61,80) a
GT5-Close Up White Now – Glacier Fresh	14,65 (2,96; 27,54) b	14,65 (3,53; 29,02) b	15,42 (3,64; 30,73) b
GT6-Sorriso Xtreme White Evolution	14,91 (3,34; 26,88) ab	15,99 (8,41; 33,77) ab	16,38 (11,44; 33,16) b
GT7-Colgate Luminous White Advanced	8,01 (5,04; 17,39) b	16,44 (1,77; 42,66) ab	15,99 (5,83; 41,39) b
p-valor	<0,0001	0,0001	0,0001

¹Letras distintas (maiúsculas na horizontal e miúsculas na vertical) indicam diferenças estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$)

No gráfico 4 e tabela 4 pode-se observar que no intervalo de zero a 24 meses todos os corpos de prova escovados com os dentifrícios apresentaram variação de pelo menos 3 no ΔE .

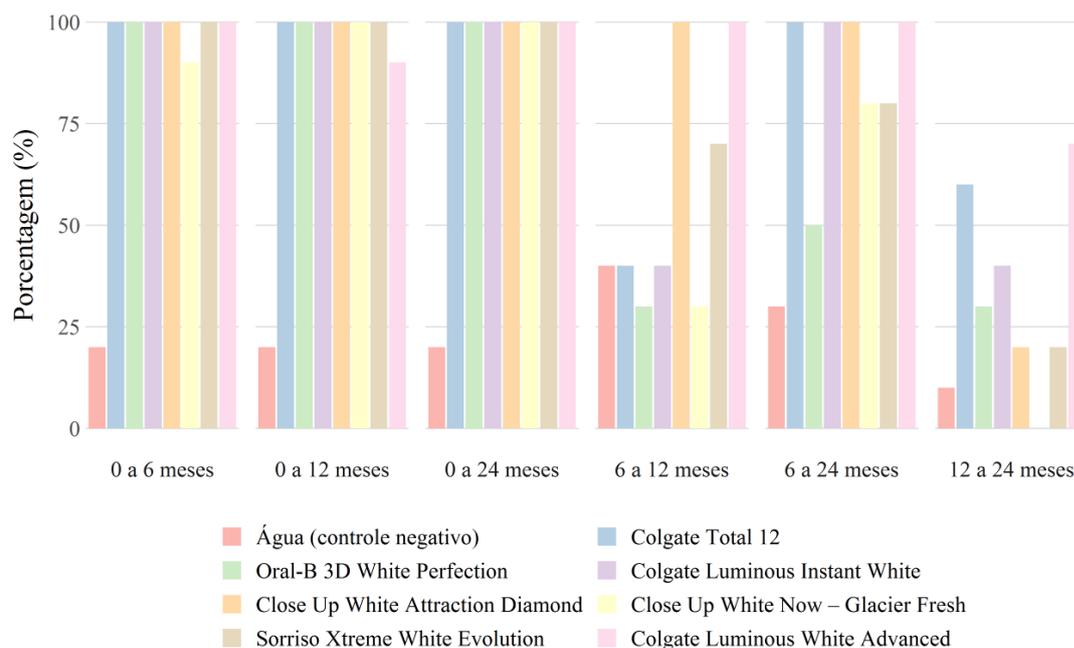


Gráfico 4 - Porcentagem de dentes com variação de pelo menos 3 no ΔE em função do grupo para cada intervalo de tempo.

Tabela 4. Frequência (porcentagem) de dentes com $\Delta E \geq 3$ em função do grupo para cada intervalo de tempo.

Grupo	Tempo		
	0 a 6 meses	0 a 12 meses	0 a 24 meses
GC-água	2 (20%)	2 (20%)	2 (20%)
GT1- Colgate Total 12	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
GT2-Oral-B 3D White Perfection	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
GT3-Colgate Luminous Instant White	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
GT4 Close Up White Diamond Attraction	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
GT5-Close Up White Now – Glacier Fresh	9 (90%)	10 (100%)	10 (100%)
GT6-Sorriso Xtreme White Evolution	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)
GT7-Colgate Luminous White Advanced	10 (100%)	9 (90%)	10 (100%)
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001

5.4 pH

A avaliação do pH dos dentifrícios foi feita em triplicata e mensurada imediatamente após o preparo das soluções. Os valores médios do pH dos grupos testados demonstraram que nenhum dentifrício apresentou pH abaixo do neutro, Tabela 5.

Tabela 5-Valores médios de pH das soluções dos dentifrícios.

Grupo	pH
GT1-Colgate Total 12	7,19
GT2 -Oral-B 3D White Perfection	7
GT3 -Colgate Luminous Instant White	8,57
GT4 - Close Up White Diamond Attraction	8,12
GT5 -Close Up White Now – Glacier Fresh	8,2
GT6 -Sorriso Xtreme White Evolution	8,44
GT7 -Colgate Luminous White Advanced	7,55

6 DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que a escovação simulada do esmalte bovino escurecido artificialmente com café por 6, 12 e 24 meses com dentifrícios branqueadores não promoveu aumento da rugosidade nem perda de massa, proporcionando melhoria da cor, promovendo polimento e branqueamento sem causar danos à estrutura dentária.

Estudos realizados para verificação da ação de dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine*, através da escovação simulada, tem usado dentes bovinos para a avaliação da cor e/ou rugosidade ^{9,21,29,30,31}. A utilização de dentes bovinos é justificada pela facilidade da sua obtenção e, principalmente, pela semelhança estrutural entre o dente bovino e o dente humano ^{37,38}. Um estudo comparativo da ultraestrutura e das propriedades físicas do esmalte bovino e humano mostrou que existe similaridade entre eles nas regiões superficial e média, e nas propriedades de microdureza e rugosidade. Além de concentrações de cálcio, fosfato e oxigênio, componentes da hidroxiapatita, serem próximas, contudo difere das suas propriedades ópticas ^{38,39}.

A maioria dos estudos *in vitro* para verificação do efeito de dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* utilizam a escovação simulada como método de avaliação, contudo, variam quanto ao tipo de equipamento, escova dentária e tempo de escovação ^{9,21,30,31,34,40} o que dificulta a comparação entre os estudos.

Informações sobre o tipo de escova utilizada nos estudos muitas vezes não são descritas ^{9,30,31} ou divergem entre os autores. Alguns estudos utilizam escovas de cabeça plana, mas não informam o tipo de cerdas ^{21,40}, outros utilizam escovas de cerdas macias com forma arredondas ³⁴. No presente estudo, foram utilizadas escovas com cerdas macias e em forma de V, indicadas pelo fabricante para um profundo alcance e melhora na limpeza dos dentes, atendendo as definições da American Dental Association (ADA) que preconiza como recomendação consensual a utilização de escovas de cerdas macias ⁴¹.

A prática mais comum de higiene bucal é a escovação com dentifrícios, promovendo a remoção mecânica do biofilme dentário ⁴². Encontram-se no mercado diversos tipos de dentifrícios que diferem quanto a sua composição de acordo com a

indicação clínica, como dentifrícios anticárie, antiplaca, branqueadores, para hipersensibilidade, para gengivite e periodontite^{32,43}.

Dentifrícios branqueadores possuem componentes semelhantes aos dos dentifrícios convencionais, como detergentes, umectantes, flavorizantes e abrasivos¹⁵. No entanto, os seus principais agentes são os abrasivos otimizados e os componentes químicos à base de peróxido para maximizar o branqueamento e remoção/prevenção das manchas. Além destes, o agente branqueador óptico *blue covarine* tem sido incorporado nas formulações de muitos dentifrícios^{10,14}.

O cuidado da escovação diária realizada com cremes dentais associados a escova de dentes deve-se à possibilidade do aumento do desgaste dentário. Abrasivos de igual dureza utilizados com escovas de cerdas duras provocam maior abrasividade do que com as de cerdas médias ou macias³². Uma vez que os dentifrícios branqueadores possuem propriedades físicas e químicas melhoradas, existe por meio dos cirurgiões-dentistas um cuidado ainda mais acentuado quanto ao seu uso^{15,32}.

Tendo-se em vista a relevância da ação dos abrasivos dos dentifrícios, sejam eles de uso convencional ou branqueadores, é importante estar atento à classificação quanto a sua abrasividade. Os dentifrícios são classificados de acordo com a *Radioactive Dentin Abrasion* (RDA). A abrasividade é classificada em alta, média ou baixa quando o RDA é de 245, 165 e 8, respectivamente, sendo 250 o valor máximo aceito. Assim, quanto maior o RDA maior a remoção de mancha e maior o risco de abrasão dentária³². A análise da rotulagem dos dentifrícios testados não trazia qualquer informação quanto a este parâmetro.

A literatura relativa à avaliação da rugosidade promovida por dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* é limitada. Um estudo comparativo *in vitro* que utilizou fragmentos de esmalte humanos submetidos à escovação simulada por 10 a 20 minutos em uma máquina de escovação que realizava 150 ciclos/minuto com carga de 375 g, verificou que não houve aumento significativo da rugosidade dos espécimes quando se comparou o efeito de dentifrícios branqueadores contendo a associação *blue covarine* e sílica, apenas sílica e de uso convencional. Este achado corrobora os resultados do presente estudo²¹.

Estudo *in vitro* realizado com espécimes de dentes bovinos, comparou após escovação com escova elétrica, por 10 segundos, a ação dos dentifrícios Colgate Total

12 Clean Mint (sílica hidratada convencional), Colgate Luminous White (Peróxido de Hidrogênio a 1%), Oral 3D white Luxe (sílica hidratada), Close Up White Diamond Attraction (*blue covarine*), associados ou não com clareamento caseiro com peróxido de carbamida a 10%, durante duas semanas. Os resultados demonstraram que apenas o grupo Colgate Luminous white apresentou aumento significativo da rugosidade após o clareamento ²⁹.

No presente estudo, os grupos testes GT4 (Close Up White Diamond Attraction), GT5 (Close Up White Now- Glacier Flash), GT6 (Sorriso Xtreme White), não apresentaram diferenças significativas de rugosidades em relação ao grupo controle após escovação simulada ao longo dos 24 meses, sugerindo uma ação de polimento da superfície dos espécimes.

Em contrapartida, os resultados dos grupos GT1 (Colgate Total 12), GT2 (Oral-B 3D White Perfection), GT3 (Colgate Luminous Instant White) e GT7 (Colgate Luminous White Advanced) apresentaram rugosidade estatisticamente maiores que o grupo controle ao longo dos 24 meses. No entanto, apesar de não haver variações estatisticamente significativas, em geral, estes grupos após 6 meses de escovação apresentaram rugosidade maior do que após a escovação por 24 meses, sugerindo também uma ação polidora dos dentífrícios nestes grupos.

Em relação a variável tempo, não houve variação significativa da rugosidade nos períodos de 06, 12 e 24 meses em todos os grupos, demonstrando que não houve aumento da rugosidade promovida pelo uso dos dentífrícios. Assim independentemente da composição, os dentífrícios estudados não causaram prejuízos à estrutura dentária.

A avaliação da massa dos corpos de provas após escovação mecânica simulada tem sido utilizada para demonstrar perdas estruturais ²⁹. Os resultados do presente estudo demonstram que não houve perda de massa significativa ao longo dos dois anos de escovação com os dentífrícios testados, branqueadores ou de uso convencional.

A influência do pH das soluções dos dentífrícios no seu potencial de abrasividade é pouco relatada na literatura. Contudo, alguns estudos apontam que dentífrícios com pH abaixo do crítico para desmineralização da estrutura dentária podem promover uma maior abrasão por uma possível associação do efeito erosivo com o abrasivo^{44, 45}. No presente estudo, todas as soluções preparadas com os dentífrícios

estudados apresentaram pH acima ou igual a 7, não ocorrendo assim interferência na abrasividade do dentífrico devido ao pH.

A mensuração da cor do dente pode ser feita por diversas técnicas, como comparação visual com guias de cores, imagens digitais e espectrofotômetros^{8,9,21}. Estudos prévios demonstraram que o espectrofotômetro VITA easyshade é um excelente instrumento para medir a cor dos dentes^{11, 46}. Um estudo *in vitro* demonstrou que a reprodutibilidade e acurácia deste equipamento na mudança de cor foi de 96,4% e 92,6%, respectivamente⁴⁶. Assim, o VITA easyshade é um dos equipamentos mais apropriados para medir as alterações da cor do dente através do sistema CIELAB¹¹.

O princípio óptico de branqueamento tem sido aplicado no desenvolvimento de dentífricos à base de *blue covarine* e sílica, com o objetivo de deslocar a cor do dente do eixo amarelo para o azul, diminuindo o valor de b^* ¹⁰. Estes dentífricos vem sendo indicados para o uso diário, produzindo uma ação branqueadora imediata após o seu uso, propiciando um efeito gradual^{8,9,47}.

Estudos *in vitro* e *in vivo* tem demonstrado o efeito branqueador imediatamente após a escovação com dentífricos que contém a associação *blue covarine* e sílica^{10,11,18,46}. No entanto, a maioria deles duram em média 02 a 06 semanas, sendo poucos os estudos que medem o efeito do branqueamento por mais de 12 semana¹⁵. O presente estudo avaliou o efeito branqueador da escovação simulada com dentífricos branqueadores por 06, 12 e 24 meses,

A diferença da cor é analisada através do ΔE , o qual avalia a diferença dos valores L^* , a^* e b^* conjuntamente em diferentes tempos. Assim, nos intervalos de tempo de 0 a 6 meses, 0 a 12 meses e 0 a 24 meses, todos os grupos apresentaram ΔE significativamente maiores que o controle negativo. Uma vez que o principal mecanismo dos dentífricos branqueadores é a presença de partículas abrasivas otimizadas que também auxiliam no polimento do esmalte⁴³, a presença da sílica hidratada, associada com outros tipos de abrasivos, em todos os grupos testados pode justificar os resultados semelhantes entre os dentífricos de uso convencional e branqueadores com *Blue Covarine* ou peróxido de hidrogênio.

Os grupos testes GT1 (Colgate total 12), GT2 (Oral-B 3D White Perfection) e GT5 (Close up White Now- Glacier Fresh), apesar de não diferirem significativamente dos demais grupos, exceto do GT4 (Close Up White Diamond Attraction) apresentaram

as menores variações de cor. Tais diferenças podem ser justificadas pelas diferentes composições e concentrações dos sistemas abrasivos contidos nos dentifrícios, uma vez que o tamanho, forma e concentrações das partículas abrasivas interferem na capacidade de remoção das manchas ⁷, bem como o branqueamento óptico é diretamente proporcional a concentração de *blue covarine* no dentifrício ^{10,11}. No entanto, não é possível ter acesso às informações mais detalhadas acerca da composição, e principalmente, das concentrações dos ingredientes dos dentifrícios, devido ao direito de sigilo dos fabricantes, limitando cientificamente as comparações entre os mesmos ⁴⁴.

O grupo GT7 (Colgate Luminous White Advanced) foi único grupo estudado escovado com dentifrício contendo peróxido de hidrogênio 2%. Contudo, apesar de possuir um agente químico de branqueamento, o que poderia potencializar o efeito branqueador, a variação de cor neste grupo não foi significativamente maior que os demais grupos testes, o que pode ser justificado pela baixa concentração do peróxido ²⁹. Assim, o efeito branqueador deste dentifrício pode estar mais relacionado com a ação abrasiva da sílica hidratada e de outros agentes que auxiliam na remoção das manchas extrínsecas, como o pirofosfato de cálcio, pirofosfato dissódico e pirofosfato tretassódico ⁴³.

O grupo teste GT4 (Close Up White Diamond Attraction) apresentou maior variação de cor, não diferindo significativamente do grupo GT3 (Colgate Luminous Instant White) nos três períodos de tempo estudado e do grupo GT6 (Sorriso Extreme White) nos intervalos de 0 a 6 e 0 a 12 meses. Os dentifrícios Colgate Luminous Instante White e o Sorriso Xtreme White, além do *blue covarine*, são compostos por outros pigmentos azuis, o azul 5 e o azul brilhante, respectivamente. A associação do *blue covarine* com outros pigmentos azuis promove uma potencialização da alteração de cor ¹¹, desta forma os valores de ΔE encontrados nestes grupos podem ser justificados por esta associação.

Em contrapartida, o GT4 (Close Up White Attraction Diamond), que possui apenas o *blue covarine* como corante azul, obteve o maior valor de ΔE e foi o único grupo testado que diferiu estatisticamente do grupo GT1 (Colgate total 12) no decorrer dos 24 meses de escovação, sem o aumento da rugosidade significativo. Observa-se que Close up White Attraction Diamond é único dentifrício que contém o óxido de estanho na formulação, que é um abrasivo extremamente fino, utilizado como agente de polimento em dentes e próteses ⁴⁸. Assim, percebe-se que houve aumento do polimento e

consequentemente aumento do brilho dos corpos de prova, o que propiciou um maior valor de L^* neste grupo, contribuindo para o aumento do ΔE ^{15,43}.

Estudos *in vitro* que avaliaram o efeito branqueador dos dentifrícios contendo *blue covarine* comparado com dentifrícios branqueadores sem *blue covarine*, ou de uso convencional, ou com água após escovação simulada também encontraram resultados similares com o presente estudo, onde houve redução do manchamento dentário comparado com a água, porém não houve diferença estatística com os outros grupos de dentifrícios ^{30,34,49,50}. Em contrapartida, alguns estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram branqueamento dentário significativamente maior quando utilizado os dentifrícios contendo *blue covarine* ^{10,11,18,29,45,46}. Tais diferenças de resultados podem ser explicados pelos diferentes materiais e métodos utilizados nos estudos.

A ADA considera um clareamento efetivo quando o ΔE é de pelo menos 3 ²⁴. No presente estudo, entre os períodos de 0 a 6 meses a frequência de ΔE maior que 3 foi de 100% em todos os grupos, exceto o da água e do Close up White- Gracier Flash. Enquanto que nos períodos entre 6 a 12, 6 a 24 e 12 a 24 meses houve redução da frequência de ΔE maior que 3 nos grupos, demonstrando que houve um branqueamento mais efetivo nos primeiros meses de escovação e que nos períodos seguintes houve manutenção da cor obtida.

No presente estudo, foi observado que a capacidade de branqueamento dentário após escovação com a maioria dos dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* foi similar à do dentifrício contendo peróxido de hidrogênio e de uso convencional, porém é importante ressaltar que não foi avaliado o efeito dos dentifrícios imediatamente após a escovação, o que pode justificar os resultados encontrados.

A escovação simulada por longos períodos pode ter equiparado o efeito branqueador destes dentifrícios, uma vez que o efeito do dentifrício branqueador contendo *blue covarine* é imediato, diferente dos dentifrícios branqueadores sem *blue covarine* ou de uso convencional, que promovem alteração da cor a partir da segunda semana de uso ³¹. Assim, após 6, 12 e 24 meses de escovação, o abrasivo parece ser o principal responsável pela remoção das manchas da estrutura dentária, bem como pela manutenção da cor.

Os resultados deste estudo permitem observar que os dentifrícios branqueadores e de uso convencional promoveram remoção dos pigmentos extrínsecos da superfície dentária após a escovação simulada por 06, 12 e 24 meses. Além disso, a

análise da composição dos dentifrícios, mostrou que todos os dentifrícios testados possuíam abrasivos em suas composições, associados a agentes ópticos ou químicos, demonstrando o importante papel dos agentes mecânicos para o efeito branqueador dos dentifrícios.

7 CONCLUSÃO

O efeito branqueador dos dentifrícios contendo *blue covarine*, após 2 anos de escovação, parece estar relacionado principalmente com a sua associação aos agentes branqueadores mecânicos, que apesar de abrasivos não causaram danos à estrutura dentária, promovendo polimento das mesmas.

REFERÊNCIAS

1. Silva FB da, Chisini LA, Demarco FF, Horta BL, Correa MB. Desire for tooth bleaching and treatment performed in Brazilian adults: findings from a birth cohort. *Braz Oral Res.* 2018;32(0):1–10.
2. Montero JC, Gomez-Polo JA, Santos M, Portillo, M.C, Lorenzo A, Albaladejo A. Contributions of dental colour to the physical attractiveness stereotype. *J Oral Rehabil.* 2014;41:768–82.
3. Al-zarea BK. Satisfaction with Appearance and the Desired Treatment to Improve Aesthetics. *Hindawi Publ Corp.* 2013;2013.
4. Awdah1 A Al, Al Hanouf Al Habdan1 GAB and WAB. The Effect of Bleaching Toothpastes Containing Blue Covarine on Enamel Color. *EC Dent Sci Res Articl.* 2017;4(15):127–33.
5. Yu H, Zhang CY, Cheng SL, Cheng H. Effects of bleaching agents on dental restorative materials: A review of the literature and recommendation to dental practitioners and researchers. *J Dent Sci [Internet]. Elsevier Taiwan LLC;* 2015;10(4):345–51.
6. Joiner A, Luo W. Tooth colour and whiteness: A review. *J Dent.* 2017;67:3–10.
7. Lippert, F. An introduction on toothpaste – its purpose, history and ingredients. *Toothpastes Monogr Oral Sci.* Basel, Karger, 2013; 23:1-14
8. Philpotts CJ, Cariddi E, Spradbery PS, Joiner A. In vitro evaluation of a silica whitening toothpaste containing blue covarine on the colour of teeth containing anterior restoration materials. *J Dent ;* 2017;67: 29–33.
9. Oliveira M, Fernández E, Bortolatto J, Oliveira Junior O, Bandeca M, Khajotia S, et al. Optical dental whitening efficacy of blue covarine toothpaste in teeth stained by different colors. *J Esthet Restor Dent.* 2016;28:68–77.
10. Joiner a, Philpotts C, Alonso C, Ashcroft a, Sygrove N. A novel optical approach to achieving tooth whitening. *J Dent.* 2008. 36:8–14.
11. Tao D, Smith RN, Zhang Q, Sun JN, Philpotts CJ, Ricketts SR, et al. Tooth whitening evaluation of blue covarine containing toothpastes. *J Dent.* 2017;67(6):20–4.
12. Matsushima EH. A questão ontológica da percepção de cor. *Paideia.* 2001;11(20):59–6.
13. Melchiades FG , Boschi AO. Cores e Tonalidades em Revestimentos Cerâmicos. *ResearchGate.* 1999;11–8.
14. Joiner A. Whitening toothpastes : A review of the literature. *J Dent.* 2010; 38:17–24.

15. Joiner A. A silica toothpaste containing blue covarine: a new technological breakthrough whitening. *Int. Dent Journal*. 2009; 59: 284-288. *J Dent*. 2010;38:17–24.
16. CIE, Colorimetry, 3rd edition, CIE, Publication, Central Bureau of the CIE, 2004.
17. Westland S, Luo W, Li Y, Pan Q, Joiner A. Investigation of the perceptual thresholds of tooth whiteness. *J Dent*. Elsevier; 2017;67(7):S11–4.
18. Tao D, Sun JN, Wang X, Zhang Q, Naeeni MA, Philpotts CJ, et al. In vitro and clinical evaluation of optical tooth whitening toothpastes. *J Dent* .2017;67(June):25–8.
19. Vanini L. A cor segundo Lorenzo Vanini. *Rev Dental Press Estét*. 2011 ;8(4):98-107.
20. Teixeira A. Estudo clínico da autorpercepção da cor dos dentes de pacientes durante e após o clareamento dental. São Paulo: Universidade de São Paulo (UNIFESP); 2013.
21. Joiner A, Philpotts CJ, Ashcroft AT, Laucello M, Salvaderi A. In vitro cleaning, abrasion and fluoride efficacy of a new silica based whitening toothpaste containing blue covarine. *J Dent*. 2008;36(SUPPL. 1):32–7.
22. Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. *J Dent*. 2004;32:3–12.
23. Pecho OE, Ginhea R, Alessandretti R, Pérez MM, Della A. Visual and instrumental shade matching using CIELAB and CIEDE2000 color difference formulas. *Dent Mater*. The Academy of Dental Materials; 2015;32(1):82–92.
24. Nishida AC. Estudo clínico randomizado, duplo cego da percepção da cor, satisfação e sensibilidade em pacientes submetidos a clareamento dental. São Paulo: Universidade de São Paulo. 2016.
25. American Dental Association. Evaluation of Four Dental Clinical Spectrophotometers Relative to Human Shade Observation, 2013.
26. Dozic A, Kleverlaan CJ, Aartman IHA, Feilzer AJ. Relation in color among maxillary incisors and canines. *Dent Mater* 2005;187–91.
27. Paravina RD, Ontiveros JC, Powers JM. Curing-dependent changes in color and translucency parameter of composite bleach shades. *J Esthet Restor Dent* 2002;14(3):158-166.
28. Smith RN, Collins LZ, Naeeni M, Joiner A, Philpotts CJ, Hopkinson I, et al. The in vitro and in vivo validation of a mobile non-contact camera-based digital imaging system for tooth colour measurement. *J Dent*. 2008;36(SUPPL. 1):15–20.

29. Jurema ALB, Claudino Es, Torres C, E B, caneppele T. Effect of Over-the-counter Whitening Products associated or Not with 10 % Carbamide Peroxide on Color Change and Microhardness : in vitro Study. *J Contemp Dent Pract.* 2018;19(April):359–66.
30. Dantas AAR, Bortolatto JF, Roncolato Á, Merchan H, Floros MC, Kuga MC, et al. Can a bleaching toothpaste containing blue Covarine demonstrate the same bleaching as conventional techniques? An in vitro, randomized and blinded study. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(6):60: 9–13.
31. Bertolato A, Junior JFRD, Roncolato A, Merchan H, Floros MC, Kuga MC, et al. Does a toothpaste containing blue covarine have any effect on bleached teeth? An in vitro, randomized and blinded study. *Dent Mater.* 2016;30(1):1–7.
32. Cury JA. Dentifrícios: como escolher e como indicar. *In: Cardoso, RJA, Golçalves, EAN. Odontopediatria Prevenção. 4ª edição. São Paulo: Artes Médicas; 2002. 281-95*
33. Hilgenberg SP, Pinto SCS, Farago PV, Fábio AS, Denise SW. Physical-chemical characteristics of whitening toothpaste and evaluation of its effects on enamel roughness. *Braz Oral Res.* 2011; 25 (4): 288-94.
34. Bergesch V, Henrique F, Aguiar B, Turssi CP, Mantovani F, França G, et al. Shade changing effectiveness of plasdone and blue covarine - based whitening toothpaste on teeth stained with chlorhexidine and black tea. *Eur J Dent.* 2017;11(4):432–7.
35. Oliveira GU de. Avaliação do desgaste e da alteração da rugosidade superficial em resinas compostas de diferentes características submetidas à escovação simulada e ciclagem de pH. Universidade de São Paulo. 2011;1;141.
36. Münchow EA, Hamann HJ, Carvajal MT, Pinal R, Bottino MC. Stain removal effect of novel papain- and bromelain-containing gels applied to enamel. *Clin Oral Investig [Internet]. Clinical Oral Investigations; 2016;20:2315–20.*
37. Soares FZM, Follak A, da Rosa LS, Montagner AF, Lenzi TL, Rocha RO. Bovine tooth is a substitute for human tooth on bond strength studies: A systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *Dent Mater [Internet]. The Academy of Dental Materials; 2016;32(11):1385–93.*
38. Nogueira BCL, Fernandes PM, Paiva ACJ, Fagundes NCF, Teixeira FB, Lima RR. Avaliação comparativa da ultraestrutura e propriedades físicas do esmalte bovino, bubalino e humano. *Pesqui Vet Bras.* 2014;34(5):485–90.
39. Freitas ABDA, Castro CDL, Sett GSJ, et al., Uso de dentes extraídos nas pesquisas odontológicas publicadas em periódicos brasileiros de acesso online gratuito: um estudo sob o prisma da bioética. *Arq Odonto.* 2010. 46 (3):136-146.

40. Ashcroft AT, Trevor F, Joiner, Laucello M, Philpotts CJ,A, Spradbery PS, et al. Evaluation of a new silica whitening toothpaste containing blue covarine on the colour of anterior restoration materials in vitro. *J Dent.*2008.36:26-31.
41. American Dental Association. *Center for Scientific Information, ADA Science Institute Last Updated: September 18, 2017. Disponível em:* <https://www.ada.org/en/member-center/oral-health-topics/toothbrushes>.
42. Magalhães AC, Moron BM, Comar P, Buzalaf AR. Uso racional dos dentifrícios Rational use of dentifrices. *rev Gaúcha Odontol.* 2011;59(4):615–25.
43. Collins, FM. Reflections on Dentifrice Ingredients, Benefits and Recommendations. *PennWell.* 2009; 1(1):1–11.
44. Bruno MS. Relação entre as características físico-químicas de quatro dentifrícios e desconforto relatado por pacientes [DISSERTAÇÃO].2013. São Paulo: Universidade Ibirapuera.
45. Jang N, Zhang C, Angingu T, Cheng H, Yu H. Comparison of whiteness dentifrices on the effectiveness of in-office tooth bleaching: A double-blind randomized controlled clinical trial. *Operative Dentistry.* 2018.
46. Kim-Pusateri S, Brewer JD, Davis EL, Wee AG. Reliability and accuracy of four dental shade-matching devices, *J. Prosthet. Dent.*2009; 101. 193–199.
47. Collins, LZ, Naeeni M, Platen SM. Instant tooth whitening from a silica toothpaste containing blue covarine 2008; 36:21-25.
48. Anusavice KJ, Shen, C, RAWIS. *Phillips materiais dentários.* 12 ed. Editora Elsevier. São Paulo. 2013, 347.
49. Torres CRG, Perote L, Gutierrez NC. Efficacy of Mouth Rinses and Toothpaste on Tooth Whitening. *OP.* 2013;38(1):57–62.
50. Roselino LMR, Tirapelli C, Pires-de-Souza FCP. Randomized clinical study of alterations in the color and surface roughness of dental enamel brushed with whitening toothpaste. *J esthet Restor Dent.* 2018; 1-7.
51. Representação do espaço tridimensional das cores CIELAB, 2013 [acesso em 28 de setembro de 2018]. Disponível em: <http://www.justpaint.org/delta-e/>.
52. A definição da cor [acesso em 20 de Dezembro de 2018] Disponível em: <http://centraldaoptometria.blogspot.com/2015/07/a-definicao-de-cor.html>

APÊNDICE A- Artigo.

Avaliação *in vitro* do efeito de dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* sobre o esmalte dentário bovino

Natália Nascimento Odilon¹, Max Lima² Patrícia Leite³, Roberto Paulo Correia de Araujo⁴, Elisângela de Jesus Campos⁵.

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciência da Saúde, UFBA; ²Professor Assistente do Instituto de Ciências da Saúde, UFBA, ³Professora Adjunta, Faculdade de Odontologia da UFBA; ⁴Professor Titular Livre Docente de Bioquímica. Instituto de Ciências da Saúde, UFBA ⁵Professora Adjunto do Instituto de Ciências da Saúde, UFBA

Resumo

Introdução: O *blue covarine* é um agente branqueador que promove mudanças ópticas na superfície dos dentes, associado aos abrasivos dos dentifrícios, colaborando para o branqueamento dentário. **Objetivo:** Determinar as alterações de cor, rugosidade e massa do esmalte bovino após escovação simulada com dentifrícios branqueadores contendo *blue covarine* nos tempos 6, 12 e 24 meses. **Materiais e métodos:** 80 corpos de prova (CPs) foram divididos em 8 grupos (n = 10): Grupo controle (GC-água) e 7 grupos-teste (GT1-Colgate Total 12, GT2-Oral-B 3D White Perfection, GT3-Colgate Luminous Instant White, GT4-Close Up White Diamond Attraction, GT5-Close Up White-Glacier Fresh, GT6-Sorriso Xtreme White, GT7-Colgate Luminous White Advanced). Os CPs foram escurecidos com café e submetidos a escovação simulada por 6, 12 e 24 meses. As avaliações de cor, rugosidade e massa foram realizadas após cada período de escovação **Resultados:** Nenhum dentifrício teste promoveu alterações significativas na rugosidade e massa dos CPs, contudo, quando comparados ao GC todos promoveram branqueamento significativo. A comparação dos grupos testes não demonstrou diferença significativa na variação de cor entre GT1, GT2, GT3, GT5, GT6 e GT7 nos tempos estudados. O GT4 apresentou comportamento variável de acordo com o tempo, não diferindo estatisticamente de GT3 aos 6, 12 e 24 meses, de GT6 aos 6 e 12 meses e de GT7 aos 12 meses. **Conclusão:** O efeito branqueador dos dentifrícios contendo *blue covarine*, após 2 anos de escovação, parece estar relacionado principalmente com a sua associação aos agentes branqueadores mecânicos, que promoveram o polimento das superfícies dentárias.

Descritores: *Blue covarine*; Abrasivos; Dentifrícios; Branqueamento dentário.

Abstract

Introduction: Blue covarine is a whitening agent that promotes optical changes on the surface of the teeth associated with the abrasives of the toothpaste, collaborating for tooth whitening. **Objective:** Determine the changes on color, roughness and mass of bovine enamel after simulated brushing with blue covarine containing whitening dentifrices at 6, 12 and 24 months. **Materials and methods:** 80 specimens were divided into 8 groups (n = 10): Control group (CG-water) and 7 test groups (TG1-Colgate Total 12, TG2-Oral-B 3D White Perfection, TG3 -Colgate Luminous Instant White, TG4-Close Up White Diamond Attraction, TG5-Close Up White Now-Glacier Fresh, TG6-Sorriso Xtreme White, TG7-Colgate Luminous White Advanced). The specimens were stain with coffee then submitted to simulated brushing for 6, 12 and 24 months. **Results:** No dentifrice test had significant changes in the roughness and mass of specimens. However, when compared to CG all they promoted significant whitening. The comparison of the test groups did not show a significant difference in the color variation between TG1, TG2, TG3, TG5, TG6 and TG7 in the study. The TG4 presented a variable behavior according to the time, without statistically difference from TG3 at 6, 12 and 24 months, from TG6 at 6 and 12 months and TG7 at 12 months. **Conclusion:** The whitening effect of dentifrices containing blue covarine, after long periods of brushing, seems to be related mainly to association with mechanical bleaching agents, which, despite abrasives, did not damage the dental structure.

Descriptors: Blue covarine; Abrasives Dentifrices; Teeth whitening.

ANEXO A- Artigo aceito pela Revista de Odontologia da UNESP

ScholarOne Manuscripts™ Natália Odilon ▾ Instructions & Forms Help Log Out

 Revista de Odontologia da UNESP

[Home](#) [Author](#)

Author Dashboard

Author Dashboard

- 1 Manuscripts with Decisions >
- [Start New Submission](#) >
- [Legacy Instructions](#) >
- [5 Most Recent E-mails](#) >

Manuscripts with Decisions

ACTION	STATUS	ID	TITLE	SUBMITTED	DECISIONED
	ADM: Leves, Maria Helena	ROUNESP-2018-0121	Avaliação in vitro do efeito de dentifrícios branqueadores contendo blue covarine sobre o esmalte dentário bovino View Submission	21-Nov-2018	21-Jan-2019
	<ul style="list-style-type: none">Accept (21-Jan-2019)Awaiting Assignment to Batch				

[view decision letter](#)

Presidência da República
Casa Civil
Subchefia para Assuntos Jurídicos

LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008.

[Mensagem de veto](#)

Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.

O PRESIDENTE DA REPÚBLICA Faço saber que o Congresso Nacional decreta e eu sanciono a seguinte Lei:

CAPÍTULO I

DAS DISPOSIÇÕES PRELIMINARES

Art. 1º A criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional, obedece aos critérios estabelecidos nesta Lei.

§ 1º A utilização de animais em atividades educacionais fica restrita a:

I – estabelecimentos de ensino superior;

II – estabelecimentos de educação profissional técnica de nível médio da área biomédica.

§ 2º São consideradas como atividades de pesquisa científica todas aquelas relacionadas com ciência básica, ciência aplicada, desenvolvimento tecnológico, produção e controle da qualidade de drogas, medicamentos, alimentos, imunobiológicos, instrumentos, ou quaisquer outros testados em animais, conforme definido em regulamento próprio.

§ 3º Não são consideradas como atividades de pesquisa as práticas zootécnicas relacionadas à agropecuária.

Art. 2º O disposto nesta Lei aplica-se aos animais das espécies classificadas como filo **Chordata**, subfilo **Vertebrata**, observada a legislação ambiental.

Art. 3º Para as finalidades desta Lei entende-se por:

I – filo **Chordata**: animais que possuem, como características exclusivas, ao menos na fase embrionária, a presença de notocorda, fendas branquiais na faringe e tubo nervoso dorsal único;

II – subfilo **Vertebrata**: animais cordados que têm, como características exclusivas, um encéfalo grande encerrado numa caixa craniana e uma coluna vertebral;

III – experimentos: procedimentos efetuados em animais vivos, visando à elucidação de fenômenos fisiológicos ou patológicos, mediante técnicas específicas e preestabelecidas;

IV – morte por meios humanitários: a morte de um animal em condições que envolvam, segundo as espécies, um mínimo de sofrimento físico ou mental.

Parágrafo único. Não se considera experimento:

I – a profilaxia e o tratamento veterinário do animal que deles necessite;

II – o anilhamento, a tatuagem, a marcação ou a aplicação de outro método com finalidade de identificação do animal, desde que cause apenas dor ou aflição momentânea ou dano passageiro;

III – as intervenções não-experimentais relacionadas às práticas agropecuárias.

CAPÍTULO II

DO CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE

EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA

Art. 4º Fica criado o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA.

Art. 5º Compete ao CONCEA:

I – formular e zelar pelo cumprimento das normas relativas à utilização humanitária de animais com finalidade de ensino e pesquisa científica;

II – credenciar instituições para criação ou utilização de animais em ensino e pesquisa científica;

III – monitorar e avaliar a introdução de técnicas alternativas que substituam a utilização de animais em ensino e pesquisa;

IV – estabelecer e rever, periodicamente, as normas para uso e cuidados com animais para ensino e pesquisa, em consonância com as convenções internacionais das quais o Brasil seja signatário;

V – estabelecer e rever, periodicamente, normas técnicas para instalação e funcionamento de centros de criação, de biotérios e de laboratórios de experimentação animal, bem como sobre as condições de trabalho em tais instalações;

VI – estabelecer e rever, periodicamente, normas para credenciamento de instituições que criem ou utilizem animais para ensino e pesquisa;

VII – manter cadastro atualizado dos procedimentos de ensino e pesquisa realizados ou em andamento no País, assim como dos pesquisadores, a partir de informações remetidas pelas Comissões de Ética no Uso de Animais - CEUAs, de que trata o art. 8º desta Lei;

VIII – apreciar e decidir recursos interpostos contra decisões das CEUAs;

IX – elaborar e submeter ao Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia, para aprovação, o seu regimento interno;

X – assessorar o Poder Executivo a respeito das atividades de ensino e pesquisa tratadas nesta Lei.

Art. 6º O CONCEA é constituído por:

- I – Plenário;
- II – Câmaras Permanentes e Temporárias;
- III – Secretaria-Executiva.

§ 1º As Câmaras Permanentes e Temporárias do CONCEA serão definidas no regimento interno.

§ 2º A Secretaria-Executiva é responsável pelo expediente do CONCEA e terá o apoio administrativo do Ministério da Ciência e Tecnologia.

§ 3º O CONCEA poderá valer-se de consultores **ad hoc** de reconhecida competência técnica e científica, para instruir quaisquer processos de sua pauta de trabalhos.

Art. 7º O CONCEA será presidido pelo Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia e integrado por:

I – 1 (um) representante de cada órgão e entidade a seguir indicados:

- a) Ministério da Ciência e Tecnologia;
- b) Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq;
- c) Ministério da Educação;
- d) Ministério do Meio Ambiente;
- e) Ministério da Saúde;
- f) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
- g) Conselho de Reitores das Universidades do Brasil – CRUB;
- h) Academia Brasileira de Ciências;
- i) Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência;
- j) Federação das Sociedades de Biologia Experimental;
- l) Colégio Brasileiro de Experimentação Animal;
- m) Federação Nacional da Indústria Farmacêutica;

II – 2 (dois) representantes das sociedades protetoras de animais legalmente estabelecidas no País.

§ 1º Nos seus impedimentos, o Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia será substituído, na Presidência do CONCEA, pelo Secretário-Executivo do respectivo Ministério.

§ 2º O Presidente do CONCEA terá o voto de qualidade.

§ 3º Os membros do CONCEA não serão remunerados, sendo os serviços por eles prestados considerados, para todos os efeitos, de relevante serviço público.

CAPÍTULO III

DAS COMISSÕES DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUAs

Art. 8º É condição indispensável para o credenciamento das instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais a constituição prévia de Comissões de Ética no Uso de Animais – CEUAs.

Art. 9º As CEUAs são integradas por:

I – médicos veterinários e biólogos;

II – docentes e pesquisadores na área específica;

III

– 1 (um) representante de sociedades protetoras de animais legalmente estabelecidas no País, na forma do Regulamento.

Art. 10. Compete às CEUAs:

I – cumprir e fazer cumprir, no âmbito de suas atribuições, o disposto nesta Lei e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais para ensino e pesquisa, especialmente nas resoluções do CONCEA;

II – examinar previamente os procedimentos de ensino e pesquisa a serem realizados na instituição à qual esteja vinculada, para determinar sua compatibilidade com a legislação aplicável;

III – manter cadastro atualizado dos procedimentos de ensino e pesquisa realizados, ou em andamento, na instituição, enviando cópia ao CONCEA;

IV – manter cadastro dos pesquisadores que realizem procedimentos de ensino e pesquisa, enviando cópia ao CONCEA;

V – expedir, no âmbito de suas atribuições, certificados que se fizerem necessários perante órgãos de financiamento de pesquisa, periódicos científicos ou outros;

VI – notificar imediatamente ao CONCEA e às autoridades sanitárias a ocorrência de qualquer acidente com os animais nas instituições credenciadas, fornecendo informações que permitam ações saneadoras.

§ 1º Constatado qualquer procedimento em descumprimento às disposições desta Lei na execução de atividade de ensino e pesquisa, a respectiva CEUA determinará a paralisação de sua execução, até que a irregularidade seja sanada, sem prejuízo da aplicação de outras sanções cabíveis.

§ 2º Quando se configurar a hipótese prevista no § 1º deste artigo, a omissão da CEUA acarretará sanções à instituição, nos termos dos arts. 17 e 20 desta Lei.

§ 3º Das decisões proferidas pelas CEUAs cabe recurso, sem efeito suspensivo, ao CONCEA.

§ 4º Os membros das CEUAs responderão pelos prejuízos que, por dolo, causarem às pesquisas em andamento.

§ 5º Os membros das CEUAs estão obrigados a resguardar o segredo industrial, sob pena de responsabilidade.

CAPÍTULO IV

DAS CONDIÇÕES DE CRIAÇÃO E USO DE ANIMAIS PARA ENSINO E

PESQUISA CIENTÍFICA

Art. 11. Compete ao Ministério da Ciência e Tecnologia licenciar as atividades destinadas à criação de animais, ao ensino e à pesquisa científica de que trata esta Lei.

§ 1º [\(VETADO\)](#)

§ 2º [\(VETADO\)](#)

§ 3º [\(VETADO\)](#)

Art. 12. A criação ou a utilização de animais para pesquisa ficam restritas, exclusivamente, às instituições credenciadas no CONCEA.

Art. 13. Qualquer instituição legalmente estabelecida em território nacional que crie ou utilize animais para ensino e pesquisa deverá requerer credenciamento no CONCEA, para uso de animais, desde que, previamente, crie a CEUA.

§ 1º A critério da instituição e mediante autorização do CONCEA, é admitida a criação de mais de uma CEUA por instituição.

§ 2º Na hipótese prevista no § 1º deste artigo, cada CEUA definirá os laboratórios de experimentação animal, biotérios e centros de criação sob seu controle.

Art. 14. O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos dos experimentos que constituem a pesquisa ou programa de aprendizado quando, antes, durante e após o experimento, receber cuidados especiais, conforme estabelecido pelo CONCEA.

§ 1º O animal será submetido a eutanásia, sob estrita obediência às prescrições pertinentes a cada espécie, conforme as diretrizes do Ministério da Ciência e Tecnologia, sempre que, encerrado o experimento ou em qualquer de suas fases, for tecnicamente recomendado aquele procedimento ou quando ocorrer intenso sofrimento.

§ 2º Excepcionalmente, quando os animais utilizados em experiências ou demonstrações não forem submetidos a eutanásia, poderão sair do biotério após a intervenção, ouvida a respectiva CEUA quanto aos critérios vigentes de segurança, desde que destinados a pessoas idôneas ou entidades protetoras de animais devidamente legalizadas, que por eles queiram responsabilizar-se.

§ 3º Sempre que possível, as práticas de ensino deverão ser fotografadas, filmadas ou gravadas, de forma a permitir sua reprodução para ilustração de práticas futuras, evitando-se a repetição desnecessária de procedimentos didáticos com animais.

§ 4º O número de animais a serem utilizados para a execução de um projeto e o tempo de duração de cada experimento será o mínimo indispensável para produzir o resultado conclusivo, poupando-se, ao máximo, o animal de sofrimento.

§ 5º Experimentos que possam causar dor ou angústia desenvolver-se-ão sob sedação, analgesia ou anestesia adequadas.

§ 6º Experimentos cujo objetivo seja o estudo dos processos relacionados à dor e à angústia exigem autorização específica da CEUA, em obediência a normas estabelecidas pelo CONCEA.

§ 7º É vedado o uso de bloqueadores neuromusculares ou de relaxantes musculares em substituição a substâncias sedativas, analgésicas ou anestésicas.

§ 8º É vedada a reutilização do mesmo animal depois de alcançado o objetivo principal do projeto de pesquisa.

§ 9º Em programa de ensino, sempre que forem empregados procedimentos traumáticos, vários procedimentos poderão ser realizados num mesmo animal, desde que todos sejam executados durante a vigência de um único anestésico e que o animal seja sacrificado antes de recobrar a consciência.

§ 10. Para a realização de trabalhos de criação e experimentação de animais em sistemas fechados, serão consideradas as condições e normas de segurança recomendadas pelos organismos internacionais aos quais o Brasil se vincula.

Art. 15. O CONCEA, levando em conta a relação entre o nível de sofrimento para o animal e os resultados práticos que se esperam obter, poderá restringir ou proibir experimentos que importem em elevado grau de agressão.

Art. 16. Todo projeto de pesquisa científica ou atividade de ensino será supervisionado por profissional de nível superior, graduado ou pós-graduado na área biomédica, vinculado a entidade de ensino ou pesquisa credenciada pelo CONCEA.

CAPÍTULO V

DAS PENALIDADES

Art. 17. As instituições que executem atividades reguladas por esta Lei estão sujeitas, em caso de transgressão às suas disposições e ao seu regulamento, às penalidades administrativas de:

I – advertência;

II – multa de R\$ 5.000,00 (cinco mil reais) a R\$ 20.000,00 (vinte mil reais);

III – interdição temporária;

IV – suspensão de financiamentos provenientes de fontes oficiais de crédito e fomento científico;

V – interdição definitiva.

Parágrafo único. A interdição por prazo superior a 30 (trinta) dias somente poderá ser determinada em ato do Ministro de Estado da Ciência e Tecnologia, ouvido o CONCEA.

Art. 18. Qualquer pessoa que execute de forma indevida atividades reguladas por esta Lei ou participe de procedimentos não autorizados pelo CONCEA será passível das seguintes penalidades administrativas:

- I – advertência;
- II – multa de R\$ 1.000,00 (mil reais) a R\$ 5.000,00 (cinco mil reais);
- III – suspensão temporária;
- IV – interdição definitiva para o exercício da atividade regulada nesta Lei.

Art. 19. As penalidades previstas nos arts. 17 e 18 desta Lei serão aplicadas de acordo com a gravidade da infração, os danos que dela provierem, as circunstâncias agravantes ou atenuantes e os antecedentes do infrator.

Art. 20. As sanções previstas nos arts. 17 e 18 desta Lei serão aplicadas pelo CONCEA, sem prejuízo de correspondente responsabilidade penal.

Art. 21. A fiscalização das atividades reguladas por esta Lei fica a cargo dos órgãos dos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, da Saúde, da Educação, da Ciência e Tecnologia e do Meio Ambiente, nas respectivas áreas de competência.

CAPÍTULO VI

DISPOSIÇÕES GERAIS E TRANSITÓRIAS

Art. 22. As instituições que criem ou utilizem animais para ensino ou pesquisa existentes no País antes da data de vigência desta Lei deverão:

- I – criar a CEUA, no prazo máximo de 90 (noventa) dias, após a regulamentação referida no art. 25 desta Lei;
- II – compatibilizar suas instalações físicas, no prazo máximo de 5 (cinco) anos, a partir da entrada em vigor das normas estabelecidas pelo CONCEA, com base no inciso V do **caput** do art. 5º desta Lei.

Art. 23. O CONCEA, mediante resolução, recomendará às agências de amparo e fomento à pesquisa científica o indeferimento de projetos por qualquer dos seguintes motivos:

- I – que estejam sendo realizados sem a aprovação da CEUA;
- II – cuja realização tenha sido suspensa pela CEUA.

Art. 24. Os recursos orçamentários necessários ao funcionamento do CONCEA serão previstos nas dotações do Ministério da Ciência e Tecnologia.

Art. 25. Esta Lei será regulamentada no prazo de 180 (cento e oitenta) dias.

Art. 26. Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 27. Revoga-se a [Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979](#).

Brasília, 8 de outubro de 2008; 187º da Independência e 120º da República.