



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



Avaliação In vitro e in vivo da eficácia do clareamento, microdureza e morfologia da superfície do esmalte submetido a altas concentrações de peróxidos contendo fluoreto de sódio e nitrato de potássio

In vitro and in vivo evaluation of the bleaching efficacy, microhardness, and surface morphology of enamel subjected to high concentrations of peroxides containing sodium fluoride and potassium nitrate.

Rafael Dascanio Cirurgião-Dentista (DDS), Mestre (MSc), Doutorando (PhD student) Departamento de Odontologia Restauradora - Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP CPF: 464.782.448-90CPF: 464.782.448-90
<http://lattes.cnpq.br/4540440173452861>

Marcos Roberto de Lima Benati. Cirurgião-Dentista (DDS), Mestre (MSc), Doutorando (PhD student) Departamento de Odontologia Restauradora - Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP. CPF: 378.696.568-44
<http://lattes.cnpq.br/7628082030099758>

Guilherme Silva dos Santos. Cirurgião-Dentista (DDS), Mestrendo (MSc student), Departamento de Odontologia Restauradora - Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP. CPF: 122.653.967-02
<http://lattes.cnpq.br/8534505065826537>

Nathalia Kaori Aida. Cirurgião-Dentista (DDS), Mestrendo (MSc student), Departamento de Odontologia Restauradora - Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP. CPF: 073.337.889-70 <http://lattes.cnpq.br/1901485735196384>

Matheus Kury Rodrigues. Cirurgião-Dentista (DDS), Mestre (MSc), Doutor (PhD) Professor Permanente do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, São Paulo. CPF: 027.520.640-80
<http://lattes.cnpq.br/8938663024969335>

Waldemir Francisco Vieira Junior. Cirurgião-Dentista (DDS), Mestre (MSc), Doutor (PhD) Professor do Departamento de Odontologia Restauradora - Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP CPF: 370.291.228-28
<http://lattes.cnpq.br/4772696315814661>

Ricardo Marins de Carvalho. Cirurgião-Dentista (DDS), Mestre (MSc), Doutor (PhD) Professor – Departamento de Biologia Oral e Ciências Médicas, University of British Columbia. CPF: 055.411.528-01
<http://lattes.cnpq.br/0559510842537257>

Vanessa Cavalli Gobbo, Cirurgiã-Dentista (DDS), Mestre (MSc), Doutora (PhD), Professora Livre-docente Departamento de Odontologia Restauradora - Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP CPF: 273.103.098-47
<http://lattes.cnpq.br/4041667876693818>

O clareamento dental utilizando peróxido de hidrogênio (HP) a 35% é bem conhecido por sua eficácia, no entanto, esse procedimento pode induzir mudanças morfológicas, reduzir a microdureza da superfície dentária e causar sensibilidade em um grande número de pacientes. Para mitigar esses efeitos, novos géis clareadores com altas concentrações de HP e peróxido de carbamida (CP), contendo fluoreto de sódio (NaF) e nitrato de potássio (KNO_3), foram desenvolvidos. Embora estudos *in vitro* confirmem a eficácia desses materiais, há uma escassez de ensaios clínicos randomizados que examinem a eficácia do clareamento e a capacidade de redução da sensibilidade desses novos géis. Além disso, novos instrumentos de medição foram sugeridos como mais eficazes e melhor adaptados para análise clínica, como um novo espectrofotômetro digital (Rayplicker Handy, Borea Dental) e um microdurômetro portátil (Cariotester), que podem ser aplicados em estudos *in vivo*. Portanto, além da necessidade de avaliar clinicamente o desempenho desses novos géis, é crucial validar a eficácia do novo espectrofotômetro digital para medição clínica de cor (Rayplicker Handy) e do microdurômetro portátil para análises *in vivo*. Este projeto tem como objetivo avaliar a eficácia e segurança *in vitro* (Estudo I) e *in vivo* (Estudo II) de novos géis de HP e CP de alta concentração contendo NaF e KNO_3 e validar o desempenho do novo espectrofotômetro digital e do microdurômetro intraoral portátil. No Estudo I, blocos de esmalte serão selecionados e submetidos ao tratamento no consultório com géis clareadores convencionais (38% HP, 35% HP) ou géis contendo NaF e KNO_3 (40%HP, 35%CP), seguindo os protocolos estabelecidos pelos fabricantes. O protocolo de clareamento será realizado de acordo com as orientações dos fabricantes, e as variáveis de resposta no Estudo I incluirão: avaliação da mudança de cor e índice de clareamento (ΔE_{00} , ΔWI_D), microdureza da superfície (KHN), rugosidade bidimensional (μm , Ra), morfologia do esmalte clareado (microscopia eletrônica de varredura - SEM), estabilidade do pH e decomposição do gel. Os dados obtidos dos espectrofotômetros (convencionais versus Rayplicker Handy) e dos microdurômetros (convencionais versus Cariotester) serão submetidos à análise de correlação linear. O ensaio clínico randomizado (Estudo II) seguirá as diretrizes CONSORT, e oitenta (80) participantes com idades entre 18 e 35 anos, de ambos os gêneros, serão selecionados com base em critérios de elegibilidade. Os participantes serão randomizados e submetidos aos mesmos protocolos de clareamento descritos no Estudo I. As variáveis dependentes incluirão ΔE_{00} , ΔWI_D , sensibilidade dentária (Escala Visual Analógica - VAS) e KHN. Os dados serão coletados em diferentes pontos durante o tratamento de clareamento, e os participantes serão avaliados quanto às mudanças de cor e índice de clareamento 6 meses após o clareamento. Os resultados serão submetidos a testes de normalidade e homocedasticidade, e testes estatísticos apropriados serão adotados considerando os fatores e níveis em cada fase da pesquisa. Todas as análises estatísticas serão realizadas com nível de significância de 5%.

O clareamento dental é um dos procedimentos estéticos mais realizados entre os pacientes. Ele pode ser realizado por meio de duas técnicas amplamente eficazes para promover a mudança de cor: clareamento em consultório e clareamento caseiro (Lin et al., 2024). Ambas as técnicas utilizam peróxido de hidrogênio (HP) ou peróxido de carbamida (CP: HP + ureia) como componentes ativos, que oxidam as moléculas pigmentadas. No entanto, as técnicas diferem na concentração do peróxido no gel, já que os procedimentos em consultório utilizam altas concentrações de peróxido de hidrogênio (35 a 40%) ou altas concentrações de peróxido de carbamida (35 a 37%). Em comparação, as técnicas caseiras utilizam concentrações baixas de peróxido de carbamida (10 a 20%) ou concentrações baixas de HP (6 a 10%) (Alkahtani et al., 2020; Lin et al., 2024). Além da concentração, as técnicas diferem no modo e na duração da aplicação, pois, na técnica em consultório, o paciente normalmente passa por três sessões de clareamento com intervalos de sete dias, enquanto na técnica caseira, uma moldeira plástica individual é usada por um período de 14 a 21 dias (Haywood & Sword, 2021).

A molécula de HP atua principalmente por meio da decomposição e liberação de espécies reativas de oxigênio (EROS), que oxidam os cromóforos (moléculas responsáveis pela cor) quebrando-os em moléculas menores e menos pigmentadas (Kwon et al., 2015; Alkahtani et al., 2020). A estrutura dental adquire maior brilho pela decomposição dos pigmentos em partículas menores (Alkahtani et al., 2020). O mecanismo de ação do CP é semelhante, pois ele é composto de HP e ureia, tornando-o um precursor do HP. No entanto, devido à presença de ureia, o CP tem apenas um terço da concentração de HP. Nesse contexto, é importante notar que o sucesso do clareamento dental está relacionado à concentração, frequência e tempo de exposição ao agente clareador (Forville et al., 2023; Soares et al., 2013; da Silva et al., 2023).

Apesar dos benefícios estéticos do clareamento dental e seu papel como adjunto na reabilitação oral, muitos pacientes experimentam sensibilidade dental como um efeito adverso, especialmente quando altas concentrações de HP são utilizadas (Machado et al., 2013). Na literatura, essa ocorrência é frequentemente atribuída ao baixo peso molecular das EROS, o que permite sua rápida difusão trans-esmalte-dentina até a polpa, levando a efeitos tóxicos nas células da polpa. Em estudos *in vitro*, os efeitos comumente relatados de altas concentrações de HP estão associados ao aumento do estresse oxidativo, resultando em diminuição da viabilidade celular e, finalmente, levando à morte das células odontoblásticas (Soares et al., 2013; Duque et al., 2020). Outros relatos observaram que o clareamento em consultório com altas concentrações de HP pode causar danos irreversíveis na polpa de incisivos inferiores humanos (Soares et al., 2013; Duque et al., 2014). Portanto, assume-se que a sensibilidade dental seja uma consequência clínica direta da condição citotóxica causada principalmente pela difusão trans-esmalte-dentina de altas concentrações de peróxido de hidrogênio (Soares et al., 2013). Assim, a sensibilidade torna-se um indicador clínico do nível de

agressão biológica resultante deste procedimento, necessitando de terapias adicionais ou modificações na técnica para garantir a continuidade segura e eficaz do tratamento (Krishnakumar et al., 2022).

Além da sensibilidade dental, outros aspectos são relatados como consequências da aplicação de altas concentrações de HP para clareamento. Estudos indicam que altas concentrações do agente oxidante podem levar a mudanças morfológicas, como aumento da rugosidade superficial (Ortiz et al., 2023) e redução da dureza e do conteúdo mineral do esmalte (Ghanbarzadeh et al., 2015; Cavalli et al., 2018). Essas alterações estão diretamente relacionadas à concentração de peróxido e ao pH do gel. Embora alguns géis comerciais de clareamento apresentem pH próximo à neutralidade, os valores nem sempre permanecem estáveis durante o tempo de aplicação recomendado pelo fabricante (Cavalli et al., 2019; de Mendonça et al., 2021).

Para prevenir ou reverter danos potenciais do HP à estrutura e ao conteúdo mineral do esmalte, alguns géis comerciais de clareamento incluem agentes com potencial remineralizante, como o fluoreto de sódio (NaF). Além de ajudar no equilíbrio iônico do esmalte, o NaF tem o potencial de ocluir os túbulos dentinários em áreas de exposição da dentina, como regiões com recessão gengival. O NaF é tipicamente combinado com nitrato de potássio (KNO_3), um agente dessensibilizante com mecanismo de ação neural. O KNO_3 funciona bloqueando a transmissão de estímulos nos tecidos da polpa (Tam, 2001). Ele aumenta a concentração de íons de potássio nas extremidades internas dos túbulos a um nível suficiente para inativar as terminações nervosas na polpa, causando a despolarização das fibras nervosas (Palé et al., 2014).

Os resultados de ensaios clínicos randomizados que avaliam a eficácia na redução da sensibilidade dental em pacientes submetidos a clareamento com altas concentrações de HP ou CP contendo nitrato de potássio são geralmente controversos: alguns estudos indicam nenhuma redução na sensibilidade (Lima et al., 2022), enquanto outros sugerem uma diminuição na intensidade da sensibilidade (Maran et al., 2020). Outros autores, por sua vez, recomendam o pré-tratamento com agentes dessensibilizantes antes do clareamento para reduzir a sensibilidade durante o procedimento (Krishnakumar et al., 2020; Godoy et al., 2021).

Embora alguns estudos avaliem o comportamento de géis de clareamento contendo NaF e KNO_3 , a evidência limitada de eficácia na redução da sensibilidade dental motiva a indústria odontológica a produzir novos géis de clareamento com potencial para aliviar a dor. Essa nova geração de géis propõe géis com pH estável próximo à neutralidade, menor potencial para alterar o conteúdo mineral e a morfologia do esmalte clareado e, possivelmente, menor sensibilidade durante e após o procedimento de clareamento. É importante notar que, além da composição, os protocolos de clareamento também influenciam diretamente a resposta de sensibilidade do paciente, pois envolvem a concentração do componente ativo aplicado em comparação com o tempo e a frequência da aplicação. Géis de clareamento com maiores concentrações de HP (38 a 40%) tendem a ser recomendados para tempos de aplicação mais curtos em comparação com concentrações de HP de 35%, enquanto géis de CP de alta concentração (35% a 37%) podem exigir tempos de contato mais longos com a superfície dentária e um número mais significativo de aplicações para alcançar resultados semelhantes aos de 35% de HP (Alkahtani et al., 2020).

Em um estudo *in vitro*, Soares et al. (2014) observaram que, enquanto o clareamento dental tradicional em consultório (35% HP aplicado por 45 minutos) resulta em clareamento rápido e eficaz, ele induz estresse oxidativo significativo nas células da polpa, associado a uma redução intensa da viabilidade celular. Os autores relatam que reduzir o tempo de contato para 5 minutos ou diminuir a concentração de HP para 17,5%, com tempos de aplicação de 45, 15 ou 5 minutos, resulta em uma mudança gradual na cor dental associada a uma menor citotoxicidade trans-esmalte e trans-dentina para a polpa (Soares et al., 2014).

Um estudo clínico comparando o desempenho de 35% HP e 37% CP mostrou que ambos os géis de clareamento foram eficazes na mudança de cor, e não houve reversão de cor após 15 dias de clareamento (Monteiro et al., 2018). Em outra avaliação clínica, os autores observaram que 37% CP reduziu a sensibilidade dental em comparação com 35% HP, mas foi menos eficaz que 35% HP (Peixoto et al., 2018). Portanto, comparar diferentes concentrações de géis de clareamento e protocolos de aplicação é necessário, pois espera-se que a eficácia entre altas concentrações de HP e CP seja semelhante. No entanto, é crucial que a intensidade da sensibilidade seja baixa para garantir a segurança do procedimento.

Para confirmar a eficácia desses géis de clareamento contendo NaF e KNO₃, estudos *in vitro* que determinem a mudança de cor, estabilidade do pH, preservação da microdureza e topografia do esmalte submetido às terapias de clareamento são necessários. No entanto, a validação dos estudos laboratoriais ocorre invariavelmente em etapas subsequentes por meio de ensaios clínicos randomizados e cegos (Umsheid et al., 2011), onde, além das condições intraorais que influenciam diretamente o desempenho desses agentes sobre o substrato, respostas sensoriais, como a determinação da sensibilidade dental, que não são reproduzíveis *in vitro*, são obtidas.

Ensaios clínicos randomizados fornecem evidências sólidas dos efeitos dos agentes de clareamento sobre os tecidos dentários e a resposta do paciente, e apoiam a tomada de decisões e a seleção da terapia mais apropriada (Umsheid et al., 2011). Embora forneçam respostas robustas, certas análises e medições, como a microdureza do esmalte, que visa avaliar indiretamente o conteúdo mineral do substrato e é amplamente realizada em testes laboratoriais, apresentam limitações no ambiente clínico devido a restrições relacionadas à técnica e ao equipamento utilizado para tais fins.

Diversos estudos utilizam o teste de microdureza para medir indiretamente o conteúdo mineral do esmalte submetido ao clareamento dental (Ghanbarzadeh et al., 2014; Zanolli et al., 2017; Cavalli et al., 2018; Ortiz et al., 2023). Como variável de resposta, esse teste mecânico tornou-se uma ferramenta essencial para prever potenciais efeitos adversos sobre o substrato dentário e, conseqüentemente, avaliar a segurança dos géis de clareamento avaliados. Testadores de microdureza convencionais (do tipo Knoop ou Vickers) exigem que a superfície do esmalte esteja plana e altamente polida, e o equipamento só pode ser usado em um ambiente de laboratório, já que é um dispositivo de bancada (Shimizu et al., 2013; Sugawara et al., 2015; Fukuyama et al., 2017). Recentemente, foi desenvolvido um testador portátil de microdureza (Cariotester, SUK-971; SaneiME, Yokohama, Japão) para uso intraoral (Shimizu et al., 2013). O equipamento é compacto e fornece fácil acesso aos dentes anteriores para medições. Além disso, não é

necessário polir a superfície do esmalte, e, assim como os indentadores Knoop tradicionais, o Cariotester mede a microdureza em números Knoop (KHN). O princípio de funcionamento do dispositivo é baseado no conceito de “perda de tinta”. A ponta do indentador é revestida com tinta e aplicada com força constante sobre a superfície de teste. Conforme o indentador penetra na superfície, a tinta é removida, e o comprimento da perda de tinta é medido e convertido em KHN (Shimizu et al., 2013; Sugawara et al., 2015; Fukuyama et al., 2017).

Em um estudo anterior, os autores validaram o Cariotester comparando seus resultados com os obtidos com um testador convencional de microdureza (Fukuyama et al., 2017). Para a validação, os autores realizaram uma correlação linear entre o testador convencional de microdureza e o Cariotester em um modelo *in vitro*, onde a microdureza do esmalte submetido ao clareamento com HP de alta concentração e pós-tratamento com agentes remineralizantes contendo fluoreto foi determinada. Os resultados mostraram uma alta correlação entre o testador convencional de microdureza e o Cariotester ($r = 0,95297$), indicando que o dispositivo pode reproduzir os resultados do teste de microdureza Knoop. No entanto, observaram que uma limitação do método é a aplicação manual de pressão, de modo que o operador deve ser treinado e calibrado antes de realizar as medições. Vale destacar que, neste estudo, o Cariotester foi utilizado apenas *in vitro* (Fukuyama et al., 2017).

Outro aspecto crítico de estudos clínicos para determinar a eficácia do clareamento dental está diretamente relacionado ao método de análise da mudança de cor. Os dois principais métodos de avaliação são o método visual convencional, que utiliza uma guia de cores, e o método instrumental, que usa dispositivos de medição de cor, como espectrofotômetros manuais (Igiel et al., 2017). O método visual é subjetivo e depende de fatores como percepção de cor do observador, condições de iluminação, translucidez e propriedades óticas do material examinado (Lehmann et al., 2011). No entanto, o olho humano pode discriminar pequenas diferenças e variações de cor entre dois objetos lado a lado (Lehmann et al., 2012). Assim, o emparelhamento visual de cores com espectrofotômetros torna-se essencial, e os avanços nos dispositivos de medição de cor minimizam a subjetividade da análise e aumentam a confiabilidade da correspondência e comunicação de cores. Estudos mostram que os espectrofotômetros dentários fornecem uma análise de cor mais precisa do que os métodos visuais (Igiel et al., 2017).

O sistema de guia de cores mais conhecido e amplamente utilizado em estudos e por profissionais é o VITA Classic (VC, Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemanha) (Igiel et al., 2017). O espectrofotômetro intraoral de referência usado para determinação objetiva é o VITA Easyshade (Vita Zahnfabrik), que possui iluminação integrada e padronizada, não afetada pelas condições de luz ambiente (Paul et al., 2004). Este dispositivo mede a quantidade de energia luminosa refletida de um objeto em intervalos de 25 nm ao longo do espectro visível (Kielbassa et al., 2009). Ele fornece informações de cor por meio do sistema de cores da Comissão Internacional de Iluminação (CIE), que descreve as cores do espectro visível (Lehmann et al., 2011). No entanto, é importante observar que o desempenho do espectrofotômetro é afetado pela curvatura

da superfície dentária, translucidez, não uniformidade das propriedades de cor, efeito de perda de borda e envelhecimento das lâmpadas (Igiel et al., 2017).

Recentemente, um novo espectrofotômetro foi introduzido no mercado odontológico (Rayplicker Handy, Borea Dental), com o objetivo de fornecer análises objetivas e reprodutíveis da cor dos dentes com base nas coordenadas CIE Lab* ou LCh*, semelhantes às fornecidas pelo espectrofotômetro Vita Easyshade (Hampé-Kautz et al., 2020). No entanto, ele difere da capacidade do Vita Easyshade de mapear e reproduzir cores e tonalidades. Ele é dividido em um tom geral ou em mapeamento detalhado em três e nove seções de cor e tonalidade. Além disso, combinado com o software Rayplicker Vision, permite análises colorimétricas e de translucidez dos dentes. Portanto, a não uniformidade das propriedades e distribuição de cor no dente, um fator limitante para a aquisição de cor com espectrofotômetros convencionais, pode ser superada pelas análises mais precisas possíveis com esse equipamento. Embora o novo Rayplicker ofereça uma capacidade superior de análise de cor em comparação com o espectrofotômetro manual Vita Easyshade, há poucos relatos de seu uso em estudos *in vitro* (Hampé-Kautz et al., 2020) e estudos clínicos ou comparações com espectrofotômetros convencionais.

Com base na importância de determinar a mudança de cor, índice de clareamento, sensibilidade e propriedades do esmalte dentário submetido aos géis de clareamento em consultório contendo agentes remineralizantes (NaF) e dessensibilizantes (KNO₃), e na necessidade de empregar tecnologias que permitam a avaliação precisa da mudança de cor e propriedades do esmalte, este projeto será dividido em dois estudos. Esses estudos englobarão análises *in vitro* (I) e *in vivo* (II) com o objetivo principal de determinar a eficácia e segurança dos géis de peróxido de hidrogênio e peróxido de carbamida de alta concentração com diferentes protocolos de aplicação, com ou sem NaF e KNO₃, utilizando novas tecnologias analíticas.

No Estudo I, serão realizadas análises *in vitro* para determinar a mudança de cor (ΔE_{00}), índice de clareamento (ΔWI_D), microdureza, rugosidade e morfologia do esmalte submetido aos clareadores de alta concentração, com NaF e KNO₃ (PH 40%, PC 35%) ou sem (PH 38%, PH 35%), seguindo os protocolos do fabricante. Além disso, a estabilidade do pH e a decomposição dos géis serão avaliadas. Os grupos sem NaF e KNO₃ serão: PH 38% (3 sessões de 20 minutos cada) e PH 35% (3 sessões de 45 minutos cada, com 3 aplicações de 15 minutos por sessão), enquanto os grupos contendo NaF e KNO₃ serão: PH 40% (3 sessões, com 3 aplicações de 20 minutos cada) e PC 35% (6 sessões de 45 minutos cada), seguindo as instruções do fabricante. Este estudo incluirá comparações/validações de duas novas tecnologias: um espectrofotômetro capaz de mapear a cor da superfície dentária, e um testador de microdureza projetado para análise *in vivo*. No Estudo II, será conduzido um ensaio clínico randomizado para determinar ΔE_{00} , ΔWI_D e sensibilidade dos pacientes submetidos aos protocolos de clareamento avaliados no Estudo I. Além disso, a microdureza *in vivo*, rugosidade e morfologia indireta do esmalte (obtida por meio de réplicas da superfície tratada) serão avaliadas.

O principal objetivo deste estudo é determinar **in vitro** (Estudo I) e **in vivo** (Estudo II) a eficácia e segurança de géis clareadores de peróxido de hidrogênio (HP) e peróxido de carbamida (CP) em altas concentrações, com ou sem fluoreto de sódio (NaF) e nitrato de potássio (KNO₃), e com diferentes protocolos de aplicação, além de validar um espectrofotômetro para análise colorimétrica e um microdurômetro intraoral para avaliação indireta do conteúdo mineral do esmalte clareado.

Objetivos específicos:

Estudo I: Avaliação in vitro da eficácia dos géis clareadores de alta concentração contendo NaF e KNO₃ e validação de um espectrofotômetro digital e um microdurômetro portátil.

1. Avaliar a eficácia do clareamento (ΔE_{00} , ΔWI_D) do esmalte submetido a géis clareadores de alta concentração contendo NaF e KNO₃ (40%HP, 35%CP) ou não (38%HP, 35%HP), com diferentes protocolos de aplicação.
2. Avaliar a microdureza, rugosidade e morfologia do esmalte submetido a géis clareadores de alta concentração contendo NaF e KNO₃ (40%HP, 35%CP) ou não (38%HP, 35%HP), com diferentes protocolos de aplicação.
3. Determinar a estabilidade do pH e a decomposição dos géis.
4. Validar duas novas tecnologias: um espectrofotômetro manual capaz de mapear a cor da superfície dental e um microdurômetro portátil para análise in vivo

Estudo II: Ensaio Clínico Randomizado de Eficácia, Sensibilidade e Segurança de Géis Clareadores de Alta Concentração Contendo NaF e KNO₃

1. Determinar a eficácia do clareamento (ΔE_{00} , ΔWI_D) de géis de peróxido de alta concentração contendo NaF e KNO₃ (40%HP, 35%CP) ou não (38%HP, 35%HP) com diferentes protocolos de aplicação.
2. Avaliar a sensibilidade dental durante e após o tratamento com géis de peróxido de alta concentração.
3. Avaliar a microdureza in vivo do esmalte após o uso de géis de alta concentração contendo NaF e KNO₃.

Estudo I: Avaliação in vitro da eficácia dos géis clareadores de alta concentração contendo NaF e KNO₃ e validação de um espectrofotômetro digital e um microdurômetro portátil.

1.1 Desenho Experimental. Blocos de esmalte/dentina serão selecionados com base na luminosidade (L*) após pigmentação com chá preto ou com base na microdureza (em KHN, sem pigmentação) e submetidos ao tratamento de consultório com géis clareadores contendo NaF e KNO₃ (PH 40%, PC 35%) ou não (PH 38%, PH 35%). O processo de clareamento será realizado conforme as instruções dos fabricantes, e as variáveis de resposta serão:

- Fase 1: Avaliação da mudança de cor dos dentes e índice de clareamento (ΔE_{00} , ΔWI_D).
- Fase 2: Avaliação da microdureza da superfície (KHN), rugosidade bidimensional (Ra) e morfologia do esmalte após o clareamento (SEM).
- Fase 3: Determinação da estabilidade do pH e decomposição dos géis clareadores.

Os dados de cor obtidos na Fase 1 com os espectrofotômetros (Vita Easyshade versus Rayplicker), e na Fase 2 com os microdurômetros testados (convencionais versus Cariotester), serão submetidos à análise de correlação linear (Tabela 1).

Table 1. Experimental design of study 1, randomized *in vitro*.

Unidades experimentais	Blocos bovinos de esmalte-dentina	
Fatores de estudo	Géis clareadores	Sem NaF e KNO₃: • 38% HP (3 sessões de 20 min) • 35% HP (3 sessions, with 3 applications x 15 min) With NaF e KNO₃: • 40% HP (3 sessões, com 3 aplicações × 20 min) • 35% CP (6 sessions of 45 min)
Variáveis respostas	• Fase 1. Análise colorimétrica: Parâmetros L*, a*, b* (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄), alteração de cor (ΔE_{00}), índice de clareamento (ΔWI_D). • Fase 2. Microdureza, rugosidade e morfologia: microdureza superficial (KHN) (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄), rugosidade (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄) microscopia eletrônica de varredura (SEM) (T₀, T₄). • Fase 3. Characterization of bleaching agents: Determinação de estabilidade do pH e da decomposição do géis clareadores de acordo com as instruções do fabricante	

Legenda: T₀ – baseline ou depois da pigmentação; T₁ – depois 1st sessão; T₂ – depois 2nd sessão; T₃ – depois 3rd sessão e T₄ – depois 14 dias da última sessão.

1.2 Cálculo do Amostral. Para o Estudo 1, o tamanho da amostra foi determinado com base nos resultados de Borges et al. (2021), que avaliaram a eficácia e segurança de géis clareadores de alta concentração, focando em parâmetros como mudança de cor, microdureza e rugosidade. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado utilizando o software G*Power, com um nível de significância de 5% e uma potência de 80%. O cálculo indicou que seriam necessários 13 espécimes para detectar uma diferença significativa no principal desfecho (ΔE_{00}). No entanto, para garantir consistência e robustez, o tamanho da amostra foi padronizado para 15 espécimes por grupo, seguindo a abordagem utilizada pelos autores.

1.3 Preparação e Seleção dos Espécimes. Dentes bovinos extraídos com esmalte intacto serão selecionados, limpos e armazenados em solução de timol a 0,1% a 4°C por até 30 dias. As coroas serão sectionadas das raízes 2mm abaixo da junção cimento-esmalte, utilizando discos de diamante (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), acoplados a um micromotor (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) com irrigação constante. Blocos de esmalte com dimensões de 5mm x 5mm x 3mm (1mm de esmalte e 2mm de dentina) serão obtidos das coroas. Os espécimes serão polidos (AROTEC, São Paulo, Brasil), e a superfície da dentina será inicialmente nivelada (#600) para garantir o paralelismo. Em seguida, o esmalte será abrasado com papéis abrasivos de carbetto de silício (#600, 800, 1200, 3M ESPE 411Q, Sumaré, SP, Brasil) e polido com disco de feltro e suspensão de diamante (partículas abrasivas de 6, 3, 1 e $\frac{1}{4}$ μ m) por 2 minutos. Parte dos espécimes será alocada para a Fase 1 (análise colorimétrica). Esses espécimes serão pigmentados com chá preto (item 1.4), selecionados (item 1.4), submetidos aos tratamentos de clareamento (item 1.5) e avaliados quanto às alterações colorimétricas (item 1.6).

Fase 1: Avaliação da Alteração de Cor e Índice de Clareamento

1.4 Pigmentação dos espécimes. Os espécimes serão isolados utilizando esmalte de unhas (Colorama, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), de modo que apenas o esmalte bucal permaneça exposto. Eles serão imersos em uma solução de chá preto (Sulieman et al., 2003). A infusão será preparada com 2g de chá preto (Leão, São Paulo, SP, Brasil) em 100mL de água destilada por 24 horas, seguido de agitação contínua à temperatura ambiente. Após a pigmentação, os espécimes serão limpos com pasta de pó de pomada (SS White, São Paulo, Brasil) e escova Robson para remover qualquer partícula não aderente. Eles serão armazenados em saliva artificial (1,5mM de cálcio $[CaCl_2]$, 0,9mM de fosfato $[NaH_2PO_4]$, 0,15mM de KCl, 0,1mol/L de tampão Tris, pH 7,0) (Queiroz et al., 2008) e incubados a 37°C por 7 dias para estabilizar a cor antes que os tratamentos sejam iniciados. A saliva artificial será substituída diariamente para garantir a estabilização da cor. Após a pigmentação, os blocos de esmalte serão selecionados com base na luminosidade (L^*) para padronizar as condições iniciais e permitir comparações intra-grupo. Serão selecionados espécimes com variação de até 10% do valor médio L^* geral. Esses espécimes manchados e selecionados serão utilizados

na Fase 1 do Estudo 1 para determinar as alterações cromáticas do esmalte submetido aos tratamentos de clareamento.

1.5 Protocolo Clareador. Entre cada sessão e após a conclusão das sessões de clareamento, os espécimes serão armazenados em saliva artificial, sendo a saliva substituída a cada 24 horas. Os géis clareadores avaliados (38% HP, 35% HP e 35% CP) são licenciados e comercialmente disponíveis no mercado nacional. No entanto, para minimizar vieses e aumentar o cegamento do estudo, apenas um dos coordenadores da pesquisa (R.M.C) terá conhecimento das marcas comerciais desses agentes. Os géis clareadores serão fornecidos em seringas ou frascos genéricos, sem nomes de marcas ou logotipos, rotulados apenas com a composição principal e data de validade. As instruções dos fabricantes serão disponibilizadas sem referência ao fabricante. O único gel utilizado com marca comercial conhecida será o 40% HP (Opalescence Boost, South Jordan, Utah, EUA), que será comparado com os outros devido à presença de NaF e KNO₃.

Géis clareadores sem NaF e KNO₃:

- **38%HP:** O gel clareador será fornecido em uma seringa de mistura automática. Para preparar a aplicação, as tampas protetoras da seringa contendo o peróxido de hidrogênio (HP) e da seringa contendo o agente espessante serão removidas, conectadas e parafusadas até ficarem no lugar. Os êmbolos das seringas serão pressionados alternadamente (sempre do lado do peróxido em direção ao agente espessante) de 14 a 20 vezes (7 a 10 movimentos em cada direção), de maneira lenta e contínua. O conteúdo misturado retornará à seringa contendo o HP, e a ponta aplicadora será parafusada. O gel será aplicado na superfície do esmalte em uma camada de 1mm, e a aplicação será realizada em 3 sessões de 20 minutos, com intervalos de 7 dias entre as sessões.

- **35%HP:** O gel clareador será fornecido em frascos contendo 35% de peróxido de hidrogênio, um agente espessante, neutralizador, mistura de corantes, gliceróis e água desionizada. Para preparar o gel, o peróxido de hidrogênio será misturado com o agente espessante em uma proporção de 3:1. Após vigorosa mistura por 40 segundos, o gel adquirirá uma cor carmesim e alta viscosidade (gel espesso). O gel será aplicado na superfície do esmalte em uma camada de 1mm, e a aplicação será realizada em três sessões. Durante cada sessão, três aplicações serão realizadas, cada uma com duração de 15 minutos, totalizando 45 minutos por sessão.

Géis clareadores com NaF e KNO₃:

- **40%HP (Opalescence Boost, Ultradent, South Jordan, Utah, EUA):** O gel clareador será fornecido em seringas de mistura automática, com uma das seringas contendo NaF e KNO₃. O gel será aplicado na superfície do esmalte em uma camada de 1mm. O tratamento consistirá de 3 sessões, com 3 aplicações de 20 minutos em cada sessão, e intervalo de 7 dias entre as sessões.

- 35% CP (6 sessões de 45 minutos): O gel clareador de peróxido de carbamida, contendo 35% de peróxido de carbamida, carbômero, nitrato de potássio, fluoreto de sódio, umectante (glicerol), neutralizantes e água desionizada, será fornecido em seringa. O gel será aplicado na superfície do esmalte por 45 minutos consecutivos. Após a aplicação dos géis, as superfícies serão bem enxaguadas com água destilada e armazenadas em saliva artificial até a próxima sessão de clareamento.

1.6 Avaliação Colorimétrica. A cor será avaliada após pigmentação (T_0), 24h após cada sessão de clareamento (T_1 , T_2 , T_3) e 14 dias após a última sessão de clareamento (T_4). Para garantir uma medição precisa, os espécimes devem ter um tamanho mínimo de 5 x 5mm para garantir que a ponta ativa do espectrofotômetro manual entre em contato completo com a superfície do esmalte.

Dois espectrofotômetros digitais serão utilizados: o Vita Easyshade (Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemanha) e o Rayplicker (Borea Dental). Ambos os dispositivos determinarão os parâmetros de cor L^* (eixo preto-branco), a^* (eixo vermelho-verde) e b^* (eixo amarelo-azul). A mudança de cor será avaliada utilizando a fórmula CIEDE2000 (ΔE_{00}), que incorpora os valores de matiz (h) e croma (C):

$$\Delta E_{00} = \sqrt{\left(\frac{\Delta L'}{K_L S_L}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H}\right)^2 + R_T \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right) \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H}\right)}$$

O Índice de Clareamento Dentário (WI_D) e a variação do Índice de Clareamento (ΔWI_D) serão calculados utilizando as seguintes equações:

$$WI_D = 0.511L^* - 2.324a^* - 1.100b^* \text{ e } \Delta WI_D = WI_D \text{ 3ª sessão de clareamento} - WI_D \text{ baseline.}$$

Os valores da mudança de cor (ΔE_{00}) serão avaliados com base no limiar de percepção (PT) e limiar de aceitação (AT), com limiares estabelecidos em 0,81 e 1,8 unidades, respectivamente. De forma semelhante, a diferença no Índice de Clareamento (ΔWI_D) será comparada aos limiares de PT e AT de 0,7 e 2,6, respectivamente. Esses limiares (50:50% PT e AT) são baseados nos critérios de percepção e aceitação estabelecidos tanto por voluntários profissionais quanto não-profissionais em estudos multicêntricos prospectivos (Paravina et al., 2015; Perez et al., 2016). Os resultados da análise de cor serão correlacionados para validar o espectrofotômetro manual Rayplicker.

Fase 2. Análise de Microdureza Superficial, Rugosidade e Morfologia

Para esta fase, serão preparadas e selecionadas amostras adicionais com base na medida de microdureza superficial utilizando um medidor de microdureza Knoop (item 2.1). Essas amostras permanecerão sem

pigmentação e passarão pelos procedimentos de clareamento descritos no item 1.5. Posteriormente, serão avaliadas quanto à microdureza (item 2.1), rugosidade (item 2.2) e morfologia (item 2.3).

2.1 Microdureza Superficial. As medições de microdureza superficial serão realizadas no momento basal (T_0), 24 horas após cada sessão de clareamento (T_1 , T_2 , T_3) e 14 dias após a última sessão de clareamento (T_4). Serão selecionadas as amostras com variação de até 10% dos valores médios de dureza Knoop, a fim de garantir a comparabilidade intra-grupo.

Neste estudo, o microdurômetro portátil Cariotester será validado em comparação com a análise convencional de microdureza em bancada (Future Tech-FM-1e, Tóquio, Japão) utilizando um indentador Knoop. Para a validação, serão utilizadas as mesmas amostras empregadas para as medições de Knoop. Contudo, serão feitas marcações na superfície lateral dos blocos dentais, dividindo a superfície oclusal em quadrantes (superior/inferior e direito/esquerdo), com o objetivo de definir precisamente o local das indentações.

A microdureza superficial será obtida pela média de 5 indentações realizadas no quadrante superior esquerdo da amostra, utilizando um indentador Knoop (Future Tech-FM-1e), com carga de 50g por 5 segundos e espaçamento de 100 μ m entre as indentações (Kury et al., 2020). Por outro lado, a microdureza superficial com o Cariotester será determinada pela média de 5 indentações no quadrante superior direito da amostra. Para padronizar o ângulo da ponta de medição em relação à superfície e a carga aplicada, a caneta de medição será fixada em um dispositivo de preparo de cavidade. A amostra, colocada sobre uma placa de acrílico, será posicionada sobre a base do dispositivo, que controla o movimento nas direções X e Y em micrômetros. Para padronização da carga, o operador será calibrado (Fukuyama et al., 2017), e o tempo de indentações será padronizado para 5 segundos. Os resultados obtidos nas medições de microdureza serão correlacionados para validar o microdurômetro Cariotester.

2.2 Rugosidade Superficial. A rugosidade superficial bidimensional será medida utilizando um medidor de rugosidade (Surfcorder SE 1700, Kosalab) para determinar o valor médio de rugosidade (R_a , em μ m) nos mesmos momentos definidos para a análise de microdureza (T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , T_4). O equipamento será calibrado com um corte de 0,25mm e velocidade de 0,2mm/s. Serão feitas três leituras de rugosidade em três direções, com uma diferença de 45° entre cada direção, e o valor médio de cada grupo será calculado (Palandi et al., 2020). Para garantir que o equipamento não meça rugosidade nas áreas onde as indentações foram realizadas, as análises serão feitas nos quadrantes inferiores das amostras.

2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Raios X por Dispersão de Energia (EDS). Quatro amostras adicionais por grupo ($n=4$) serão preparadas, as quais passarão pelos procedimentos iniciais de polimento da amostra (item 1.3) e pigmentação (item 1.4). Uma fita adesiva será utilizada para isolar metade do esmalte exposto, e as amostras serão submetidas aos tratamentos de

clareamento de acordo com os grupos experimentais avaliados. Após os tratamentos (T3), duas amostras serão analisadas para morfologia superficial utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), e após 14 dias (T4), as duas amostras restantes serão observadas por MEV (JEOL JSM-6460LV, Tóquio, Japão). As amostras serão limpas em um banho ultrasônico (Ultra Cleaner, Unique, Indaiatuba, SP, Brasil) por 10 minutos e secas por 24 horas em estufa de secagem. Após a secagem, as amostras serão revestidas com carbono e submetidas ao sistema automático de análise de imagens por MEV, operando a 15kV no modo de vácuo (45Pa) (Alexandria et al., 2017), para aquisição de imagens com aumento de 3000x.

Fase 3. Caracterização dos Agentes de Clareamento: Determinação da Estabilidade de pH e Decomposição dos Géis de Clareamento de acordo com o Protocolo de Aplicação do Gel

3.1 Análise de pH. O pH dos agentes de clareamento será medido em triplicata utilizando um pHmetro (Equilam, Diadema, SP, Brasil) conectado a um potenciômetro (Orion Research Incorporated, Boston, MA), previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. Para a medição do pH, 1g de gel será misturado com 10mL de água desionizada utilizando um agitador magnético por 10 minutos à temperatura de 20°C. O pHmetro determinará o pH em três momentos: 0 minutos, 20 minutos e 45 minutos, correspondentes ao tempo de contato do gel de clareamento com a superfície dental.

3.2 Decomposição dos Géis de Clareamento. A decomposição dos agentes de clareamento será avaliada utilizando um titulador automático (HI902C1-02, Hanna Instruments, Carrolton, Texas, EUA). A avaliação da decomposição dos agentes será realizada em três momentos: 0 minutos, 20 minutos e 45 minutos. Uma amostra do gel de clareamento (0,01g) será pesada e diluída em 20mL de ácido sulfúrico 1M, com agitação contínua até completa homogeneização, para titulação com permanganato de potássio (KMnO₄) a 0,1N, conforme a metodologia descrita por Borges et al. (2021). Para a determinação do ponto final da titulação, será utilizado um eletrodo Redox (HI 3131B, Hanna Instruments) para determinação potenciométrica. A reação de permanganometria é baseada na seguinte equação:



Uma solução de oxalato de sódio (Na₂C₂O₄) a 0,67% será utilizada para padronizar a solução de permanganato de potássio. Para a padronização, 25mL da solução de oxalato e 25mL da solução de ácido sulfúrico serão adicionados ao frasco de titulação. A titulação será realizada automaticamente pelo aparelho, que injeta a solução de permanganato de potássio na alíquota diluída até o ponto de equivalência ser atingido, momento em que todo o H₂O₂ é consumido. O fator de correção será então calculado, e os dados serão inseridos na fórmula:

$$C = V \times Cf \times 1.701 \times \frac{100}{m}$$

onde:

- C= concentração de H₂O₂ (w/w);
- V = volume de KMnO₄ adicionado durante a titulação;
- Cf= fator de correção para o KMnO₄ a 0,1N;
- m = massa da amostra em miligramas.

Uma nova amostra da solução será coletada após 25 minutos de reação, e a concentração de peróxido será determinada novamente. A porcentagem de consumo de peróxido devido à reação será calculada, considerando a concentração inicial como 100%.

Análise Estatística. Os dados serão submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade e ao teste de Levene para avaliar a homocedasticidade. Após a verificação da normalidade e homocedasticidade, serão aplicados os testes estatísticos apropriados, considerando os fatores e níveis em estudo em cada fase da pesquisa. Todas as análises estatísticas serão realizadas com um nível de significância de 5%.

Os dados de avaliação colorimétrica (Fase 1), obtidos a partir de dois espectrofotômetros, e os dados dos dois dispositivos usados para a determinação de microdureza (Fase 2) serão avaliados para o coeficiente de correlação de Pearson (Fukuyama et al., 2017) ou correlação linear simples. O teste de correlação de Pearson é uma medida estatística utilizada para avaliar a relação entre duas variáveis contínuas, com base na covariância. O coeficiente de correlação de Pearson, representado por “r”, fornece informações sobre a força e direção da relação entre as variáveis, indicando se essa relação é positiva ou negativa (Taylor, 1997). O valor pode variar de +1 a -1, onde:

- $r > 1$ → Correlação positiva: variáveis estão diretamente correlacionadas.
- $r < -1$ → Correlação negativa: variáveis estão inversamente correlacionadas.
- $r = 0$ → Sem correlação: variáveis são independentes entre si.

Estudo 2: Ensaio Clínico Randomizado sobre a Eficácia, Sensibilidade e Segurança de Géis de Clareamento de Alta Concentração Contendo NaF and KNO₃

4.1 Aspectos éticos. O projeto será submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da FOP/UNICAMP para aprovação e será registrado no Registro Nacional de Ensaaios Clínicos. Neste estudo, serão utilizados materiais comercialmente disponíveis no mercado internacional de odontologia, sendo o efeito colateral mais comumente observado a sensibilidade dental transitória. A literatura não relata quaisquer efeitos adversos que possam prejudicar os participantes do estudo. Os participantes receberão informações detalhadas sobre todos os procedimentos e serão solicitados a assinar duas cópias do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – Anexo 1).

4.2 Local da pesquisa. Clínica de Pós-Graduação (Departamento de Odontologia Restauradora) da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas (FOP/UNICAMP).

4.3 Delineamento experimental. Este estudo clínico randomizado duplo-cego será conduzido de acordo com o desenho experimental delineado na Tabela 2. O desenho experimental segue os padrões estabelecidos pelo CONSORT 2010. Os tratamentos de clareamento serão administrados a 80 participantes, que serão mantidos inconscientes sobre o grupo de tratamento ao qual foram atribuídos (n=20): 40% HP e 35% CP (ambos os géis contendo NaF e KNO₃) e 38%HP e 35%HP (ambos os géis sem NaF e KNO₃). Os participantes serão randomizados e atribuídos a um dos tratamentos de clareamento com base nos critérios de elegibilidade (critérios de inclusão e exclusão) para avaliar a mudança de cor, sensibilidade dental e microdureza superficial. Um membro da equipe de pesquisa será responsável pela randomização dos participantes nos diferentes grupos de clareamento, garantindo o sigilo da alocação. Embora os operadores estejam informados sobre a alocação de cada participante aos grupos, a pessoa responsável pela análise colorimétrica permanecerá cega quanto aos procedimentos realizados.

Tabela 2. Desenho do Estudo Clínico Randomizado

Unidades experimentais	Indivíduos com idades entre 18 e 35 anos	
Fatores de estudo	Bleaching gels	<i>Without NaF e KNO₃:</i> • 38% HP (3 sessões de 20 min) (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₁₄, T_F) • 35% HP (3 sessions, with 3 applications x 15 min) (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₁₄, T_F) <i>With NaF e KNO₃:</i> • 40% HP (3 sessoes com 3 aplicações de 20 min). (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₁₄, T_F) • 35% CP (6 sessões de 45 min) (T₀, T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆, T₇, T₈, T₉, T₁₀, T₁₁, T₁₄, T_F)
Variáveis respostas	• Alteração de cor (L*, a*, b*) ΔE_{00}, ΔWI_D - (T₆ - T₀), (T_F - T₀) • Alteração de cor subjetiva (ΔSGU) • Teste de sensibilidade (EVA) • Avaliação de microdureza (T₅ - T₀ or T₁₁ - T₀) e (T_F - T₀)	

Caption: T₀ – baseline; T₁ – depois 1st sessão; T₂ – antes da 2nd sessão; T₃ – depois da 2nd sessão; T₄ – antes da 3rd sessão; T₅ – depois da 3rd sessão; T₆ – antes da 4th sessão; T₇ – depois da 4th sessão; T₈ – antes da 5th sessão; T₉ – depois da 5th sessão; T₁₀ – antes da 6th sessão T₁₁ – depois da 6th sessão; T₁₄ – depois de 14 dias da última sessão; T_F – depois de 6 meses da última sessão.

4.4 Autorização para realização do estudo. Este estudo será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP/UNICAMP). Para participar deste estudo, os participantes assinarão o termo de consentimento informado (Anexo 1), de acordo com as diretrizes éticas para pesquisas envolvendo seres humanos estabelecidas pelo comitê de ética.

4.5 Cálculo amostral. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado utilizando a calculadora do software Sealed Envelope Ltd. 2012 (<https://www.sealedenvelope.com/power/continuous-superiority/>) e os resultados de Kury et al. (2020) como referência. O cálculo no software utilizou os resultados dos grupos experimental e controle, bem como o desvio padrão. Os resultados do cálculo indicaram que uma amostra de 20 participantes por grupo é suficiente para detectar uma diferença de 5% ($p < 0,05$) com 80% de poder.

4.6 Seleção e abordagem dos participantes. Os participantes serão recrutados **somente após aprovação do CEP** por meio de mídias digitais e cartazes afixados em quadros de aviso da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP/UNICAMP, especificamente para a pesquisa relacionada ao clareamento dentário. Os voluntários selecionados terão prioridade nos procedimentos de clareamento, sem comprometer o fluxo normal de atendimentos da Clínica Odontológica da FOP. Caso apresentem necessidade de outros tratamentos, os participantes serão devidamente encaminhados, de forma ética, aos departamentos correspondentes. Pacientes já em tratamento na FOP e que forem selecionados para a pesquisa terão um plano de atendimento integrado, garantindo que o clareamento não interfira em outras condutas clínicas, exceto em casos de restaurações em dentes anteriores, quando será ofertada a possibilidade de recusa à participação. Voluntários não selecionados, mas com indicação para clareamento, serão encaminhados para atendimento na Clínica de Graduação da FOP/UNICAMP. Todos os participantes, selecionados ou não, receberão atendimento responsável e ético, conforme os princípios da boa prática clínica. Poderão ser incluídos alunos, funcionários, docentes e pacientes da Universidade, desde que atendam aos critérios de inclusão e exclusão. Durante o exame clínico inicial, será realizada a avaliação dos elementos dentários, incluindo a presença de cárie, restaurações defeituosas ou necessidades periodontais. A abordagem dos potenciais participantes será feita presencialmente pelos pesquisadores, durante os atendimentos clínicos realizados na Clínica de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP. Após a verificação prévia dos critérios de elegibilidade, os voluntários aptos serão convidados a participar do estudo. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) será entregue impresso, com tempo adequado para leitura, esclarecimento de dúvidas e reflexão. A participação será formalizada com a assinatura do TCLE em duas vias: uma destinada ao participante e outra arquivada pelo pesquisador responsável, com assinaturas de ambas as partes.

Critérios de inclusão, exclusão e interrupção:

Critérios de inclusão

Para participar do estudo, o paciente deve:

1. Fornecer consentimento informado por escrito e assinado.
2. Concordar em não participar de outros ensaios clínicos durante a realização deste estudo.
3. Apresentar boa saúde geral e bucal.
4. Não ter realizado clareamento dental nos últimos 3 anos; ou, se tiver realizado clareamento nesse período, seus dentes devem estar mais escuros do que a tonalidade A2.
5. Ter dentes vitais (resposta positiva ao teste de sensibilidade ao frio, ausência de sinais ou sintomas de patologia pulpar ou periapical, e ausência de sinais radiográficos de patologia periapical).
6. Não apresentar espaços edêntulos entre os pré-molares em ambas as arcadas (superior ou inferior).
7. Os incisivos superiores devem ser classificados como tonalidade A2 ou mais escuros e não devem apresentar cáries ou restaurações.
8. Ter idade entre 18 e 30 anos.
9. Estar em tratamento odontológico na clínica de Pós-graduação da FOP/UNICAMP ou ser aluno regularmente matriculado nos cursos de graduação ou pós-graduação da FOP/UNICAMP, desde que não haja vínculo acadêmico direto com os pesquisadores responsáveis pelo projeto, como participação em disciplinas ou orientação sob responsabilidade destes, de modo a evitar qualquer possibilidade de conflito de interesses.
10. Ser do sexo masculino ou feminino, sem predileção por gênero, estimando-se uma amostra equilibrada quanto à distribuição por sexo.

Critérios de exclusão:

O indivíduo será excluído do estudo se:

1. Estiver participando de outro estudo de pesquisa clínica.
2. Apresentar qualquer condição médica pré-existente (gestantes, lactantes, fumantes ou aqueles com uso rotineiro de álcool) ou condição bucal (dentes não vitais, cárie dentária na área a ser clareada, necessidade de tratamento endodôntico, ortodôntico ou periodontal, ou higiene bucal inadequada) que o investigador/examinador considere um risco durante o estudo.
3. Apresentar reação adversa aos materiais utilizados ou possuir um histórico médico ou odontológico que possa interferir no andamento do estudo.
4. Não puder comparecer às consultas agendadas.
5. Apresentar dentes com rachaduras ou outros defeitos que possam aumentar o risco de toxicidade pulpar.
6. Estiver em tratamento periodontal ou necessitar de tratamento para cárie dentária.
7. Possuir dentes mais claros do que a tonalidade A2.
8. Apresentar restaurações extensas nos dentes a serem clareados.
9. Possuir histórico de sensibilidade dentária.

Observação: Caso os participantes não atendam aos critérios de seleção do estudo e necessitem de atendimento odontológico, serão encaminhados para a Clínica de Graduação da FOP/UNICAMP (a inclusão na lista de tratamento e o tempo de espera seguirão as diretrizes estabelecidas pela Clínica Odontológica). Os participantes serão informados sobre os motivos pelos quais não foram incluídos no estudo e sobre o tipo de tratamento necessário.

Critérios para suspender ou encerrar a pesquisa:

A pesquisa poderá ser suspensa ou encerrada antecipadamente nas seguintes situações:

- (i) identificação de riscos não previstos que comprometam a segurança dos participantes;
- (ii) ocorrência de eventos adversos graves relacionados à intervenção proposta;
- (iii) desistência significativa dos participantes que comprometa a validade científica do estudo;
- (iv) recomendação do Comitê de Ética em Pesquisa ou da CONEP;
- (v) decisão dos pesquisadores em razão de dificuldades técnicas ou operacionais não superáveis;
- (vi) conclusão antecipada dos objetivos da pesquisa.

Em qualquer dessas situações, os participantes serão comunicados, receberão o devido acompanhamento e, quando necessário, encaminhamento para continuidade do cuidado odontológico.

4.8 Randomização em cada grupo experimental. Os oitenta participantes selecionados para o estudo (N=80), que atenderem aos critérios de inclusão, serão aleatoriamente distribuídos em um dos quatro grupos (n=20): 40%HP (com NaF e KNO₃), 35% CP (com NaF e KNO₃), 38%HP e 35%HP, utilizando uma ferramenta de randomização disponível em www.sealedenvelope.com, por meio do serviço de randomização simples:

(<https://www.sealedenvelope.com/simple-randomiser/v1/new>). Um membro da equipe de pesquisa (V.C.G.), que não está envolvido nos procedimentos de clareamento ou nas avaliações, será responsável pela randomização. O resultado da randomização será revelado ao operador apenas durante a primeira consulta de clareamento. Os participantes não saberão qual a concentração de peróxido utilizada no procedimento. Os operadores (R.D., G.S.S., e N.A.K.) estarão cientes das intervenções de clareamento realizadas nos voluntários, pois os géis utilizados têm aparências distintas e formas de apresentação diferentes (seringa ou frascos), mas não saberão a marca comercial dos géis (exceto R.M.C). Para garantir que os participantes não saibam a qual grupo pertencem, um assistente realizará o procedimento de forma cega, assegurando que o gel de clareamento não seja visível para os participantes. O avaliador colorimétrico (M.B.) será cego para todos os procedimentos realizados.

4.7 Procedimentos clínicos iniciais. Na primeira consulta clínica, os participantes serão submetidos a uma profilaxia com copo de borracha, pasta profilática e moldagem do arco superior para a confecção de uma bandeja individual de silicone (Futura AD, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). A bandeja individual será

utilizada para padronizar a posição da ponta do espectrofotômetro em todas as consultas clínicas, evitando assim alterações na aquisição dos dados de cor. Cada bandeja terá uma abertura circular de 6 mm nos incisivos centrais (11 e 21) e nos caninos (13 e 23) de cada participante (Mena-Serrano et al., 2016). Posteriormente, os participantes serão agendados para iniciar o tratamento de acordo com o sorteio e o protocolo estabelecido para cada grupo.

4.8 Protocolos clareadores. No início da aplicação, será aplicada uma barreira gengival fotopolimerizável para proteção dos tecidos moles em todos os participantes, conforme as instruções do fabricante. A manipulação do gel será realizada conforme descrito no item 1.5. Os participantes em cada grupo (n=20) serão submetidos aos seguintes tratamentos:

Géis clareadores sem NaF e KNO₃:

1. **38%HP.** Após a aplicação da barreira gengival, o gel será aplicado na superfície do esmalte (em camada de 1mm). O gel será aplicado em 3 sessões de 20 minutos cada, com intervalos de 7 dias entre as sessões.
2. **35%HP.** O gel será aplicado na superfície do esmalte (em camada de 1mm) e será administrado em três sessões. Cada sessão consistirá em três aplicações de 15 minutos cada, totalizando 45 minutos por sessão.

Géis clareadores com NaF e KNO₃

3. **40% HP** (O gel de 40% de peróxido de hidrogênio (HP), com NaF e KNO₃ (Opalescence Boost, Ultradent), será aplicado na superfície do esmalte (em camada de 1mm) e administrado em 3 sessões, com 3 aplicações de 20 minutos cada, com intervalo de 7 dias entre as sessões.
4. **35% CP.** O gel será aplicado na superfície do esmalte (em camada de 1mm) por 45 minutos consecutivos, totalizando 6 sessões de 45 minutos cada.

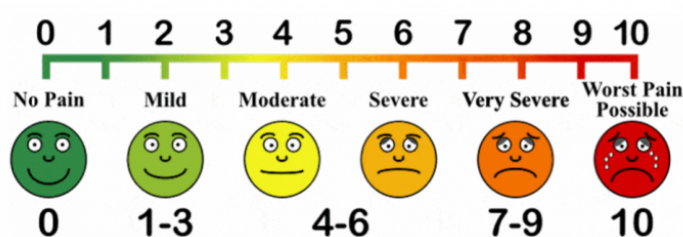
5.0 Análises durante o protocolo clareador

1. Alteração de cor. A mudança de cor será avaliada tanto de forma objetiva quanto subjetiva. A medição objetiva será realizada utilizando dois espectrofotômetros portáteis: Vita Easyshade Advance (VITA Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co. KG, Bad Säckingen, Alemanha) e Rayplicker (Borea Dental). O dispositivo Easyshade será acoplado a uma bandeja personalizada, enquanto o espectrofotômetro Rayplicker será adaptado diretamente à superfície bucal, pois sua ponta cobre toda a superfície dental bucal. A análise subjetiva da cor será realizada utilizando o Guia de Cores Vita Classical (Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Alemanha). As medições objetivas de cor serão feitas imediatamente antes e após o tratamento de clareamento em cada sessão, 14 dias e 6 meses após o clareamento.

Os valores da mudança de cor ($\Delta E00$) serão determinados de acordo com o sistema CIEDE 2000, utilizando a bandeja de silicone previamente fabricada, conforme descrito na seção "Procedimentos Clínicos Iniciais". Além disso, será calculado o Índice de Clareamento (ΔWID). Esses valores ($\Delta E00$, ΔWID) serão computados com base nos valores iniciais, obtidos antes da primeira sessão de clareamento (T0, baseline), após o tratamento final de clareamento (T5 ou T11) após a terceira ou sexta sessão, 14 dias (T14) e seis meses (TF) após a última sessão de clareamento.

Na avaliação subjetiva da cor (ΔSGU), o guia de cores será classificado do maior valor (1) para o menor (16), conforme a seguinte escala: B1, A1, B2, D2, A2, C1, C2, D4, A3, D3, B3, A3.5, B4, C3, A4 e C4 (Loguercio et al., 2017). Ambas as análises de cor, objetiva e subjetiva, serão realizadas simultaneamente durante a avaliação inicial (T0), antes de cada sessão de clareamento (T2, T4 e T6, T8, T10), e imediatamente após o clareamento em cada sessão (T1, T3, T5 e T7, T9, T11). Além disso, será realizada uma análise para avaliar a estabilidade da cor 14 dias após a última sessão de clareamento (T14) e seis meses após a última sessão (TF). Consequentemente, os participantes serão convocados para avaliações de acompanhamento.

2. Análise de sensibilidade. A sensibilidade durante e após cada sessão de clareamento será avaliada utilizando a Escala Visual Analógica (EVA) para dor (ilustrada abaixo) (Figura 1). O operador pedirá ao participante para classificar seu nível de dor de 0 a 10 durante o período de tratamento. Na sessão subsequente, será feita a mesma pergunta em relação à sensibilidade experimentada nos dias seguintes à sessão anterior. Este protocolo será repetido durante toda a duração dos tratamentos de clareamento.



Figurea1. Escala Visual Analógica (EVA)

Análise estatística. Os dados serão tabulados e submetidos a testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e de homocedasticidade (Levene). Em seguida, serão realizados testes estatísticos utilizando o software SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Para comparações múltiplas, um teste post-hoc será determinado previamente. Todos os testes serão realizados com nível de significância de 5%.

Datas		Estudo I	Estudo II
2025	Jan	Coleta de incisivos bovinos	Submissão ao Comitê de ética (FOP/UNICAMP)
	Fev	Preparação dos espécimes Pigmentação e seleção Fase 1: Análise de cor	-
	Fev	Fase 2: microdureza, rugosidade e morfologia	-
2025	Mar	Fase 3: pH, decomposição e titulação	-
	Jun- Ago	Análise estatística Escrita do artigo	Somente após a aprovação do CEP: Divulgação da pesquisa Seleção dos participantes (somente após aprovação do CEP) Início das análises clínicas Estudo clínico (análise de cor e sensibilidade)
	Nov - Dez		Somente após a aprovação do CEP: Acompanhamento 6 meses após o clareamento
	Nov- Dez		Somente após a aprovação do CEP: Análise estatística Preparação do artigo científico

Comentários éticos sobre a pesquisa

2.7.1) Modo de abordagem dos participantes da pesquisa para a obtenção do TCLE (ou plano de recrutamento):

Os potenciais participantes deste projeto serão informados por meio de cartazes autorizados pela administração da FOP-UNICAMP, afixados nos quadros de avisos institucionais. Os anúncios, impressos em papel A4 branco, conterão as seguintes informações: “SELEÇÃO DE PACIENTES PARA PESQUISA DE CLAREAMENTO CLÍNICO”, “Caso tenha interesse em participar, entre em contato para mais informações”, e os dados de contato do pesquisador (e-mail: rafaelascanio@gmail.com; WhatsApp: +55 19 9 9227-7261).

Além disso, o recrutamento poderá ocorrer por convite direto, em ambiente acadêmico (clínica odontológica universitária), após triagem inicial de prontuários e verificação dos critérios de elegibilidade. A abordagem dos

potenciais participantes será realizada exclusivamente pelo pesquisador responsável ou por um membro da equipe devidamente treinado, de forma presencial, em local reservado, garantindo privacidade e conforto.

Durante a abordagem, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) será entregue impresso, apresentado em linguagem acessível e em duas vias. O participante terá tempo adequado para a leitura e poderá esclarecer dúvidas diretamente com o pesquisador responsável. A assinatura do TCLE será solicitada apenas após a confirmação de que o participante compreendeu plenamente os objetivos, procedimentos, riscos e benefícios do estudo. Uma via assinada será entregue ao participante, e outra permanecerá arquivada com a equipe de pesquisa.

2.7.2) Justificativa para participação de grupos vulneráveis:

Grupos vulneráveis, especificamente estudantes da instituição à qual o pesquisador está afiliado, estarão envolvidos neste estudo. Como estudantes de odontologia, esses participantes possuem tanto conhecimento teórico quanto prático, o que ajuda a evitar discrepâncias na metodologia do estudo. Além disso, sua participação facilita a logística de comparecimento às sessões de clareamento, uma vez que já estarão presentes na instituição para outras atividades de graduação e pós-graduação.

2.7.3) Análise crítica de desconfortos e riscos:

Durante o curso da pesquisa, os participantes não estarão expostos a riscos significativos durante os exames clínicos, a limpeza, a confecção de moldes para análise de cor, os procedimentos de clareamento ou a avaliação da cor dos dentes e microdureza dos dentes. É importante ressaltar que todos os procedimentos, embora geralmente seguros, podem causar algum nível de desconforto ou inconveniência. Para a confecção do molde para análise de cor, será utilizado um material semelhante à borracha, que será colocado na boca do participante. Embora esse procedimento seja geralmente seguro, algumas pessoas podem sentir leve desconforto durante esse processo, podendo até ocorrer sensação de náusea. Além disso, é importante observar que o protocolo de clareamento pode causar desconfortos temporários, como sensibilidade dentária, irritação gengival, sensação de queimação na mucosa oral e aumento da salivação. Esses sintomas costumam ser transitórios e tendem a diminuir após a conclusão do tratamento, mas podem causar desconforto durante o processo de clareamento. Durante a análise de microdureza uma caneta calibradora fará uma pequena marcação no incisivo central, isso pode gerar uma ligeira pressão no dente gerando um ligeiro desconforto, mas não é capaz de gerar sensibilidade ou irritação de mucosa. O pesquisador está comprometido em garantir sua segurança e bem-estar ao longo do estudo. Caso tenha qualquer preocupação ou experimente desconforto além do esperado, o paciente deve informar o investigador principal. Além disso, o pesquisador fornecerá informações detalhadas sobre a duração de cada consulta/visita para que o paciente possa planejar sua participação de acordo com sua agenda pessoal.

2.7.4) Descrição das medidas para proteção ou minimização dos desconfortos e riscos previsíveis:

Dado os desconfortos específicos relacionados à moldagem e à profilaxia, serão adotadas medidas para garantir o máximo de conforto para os participantes. Durante a moldagem, precauções extras serão tomadas para

minimizar qualquer sensação de desconforto, e a bandeja mais adequada será cuidadosamente selecionada para reduzir a probabilidade de náusea ou irritação. Da mesma forma, durante a profilaxia, serão empregadas técnicas suaves e precisas para garantir o mínimo de desconforto. No caso de sensibilidade extrema relacionada ao clareamento, o tratamento será imediatamente interrompido. Se o gel entrar em contato com a mucosa, será aplicado um neutralizador na área afetada, e, se necessário, pode ser realizada a aplicação de laser para proporcionar alívio e promover uma cicatrização adequada. Além disso, o pesquisador responsável estará disponível 24 horas por dia durante todo o período do estudo para atender quaisquer necessidades dos participantes. Para minimizar desconfortos, o dispositivo palatino será confeccionado sob medida, com bordas arredondadas e orientação quanto ao uso e higienização. Em caso de sensibilidade dentária, os participantes serão orientados a interromper o uso do dispositivo e contatar imediatamente a equipe de pesquisa, sendo disponibilizado atendimento clínico gratuito. Um telefone celular do pesquisador será fornecido para contato emergencial 24h durante o período de uso. A segurança do material experimental foi previamente testada em estudos in vitro. O tempo de uso do dispositivo será limitado e controlado para evitar efeitos adversos.

2.7.5) Análise crítica de benefícios diretos esperados:

Os participantes terão a oportunidade de realizar o clareamento dental em consultório sem custo adicional e receber acompanhamento odontológico regular de profissionais qualificados. Isso não só auxilia na detecção precoce de problemas de saúde bucal e no manejo eficaz de condições existentes, mas também permite que os participantes desempenhem um papel crucial no avanço científico. A participação voluntária ajudará os pesquisadores a obter uma compreensão mais aprofundada dos efeitos do clareamento em consultório e a desenvolver novos agentes clareadores.

2.7.6) Descrição das medidas de monitoramento da coleta de dados e proteção à confidencialidade:

Todos os dados obtidos serão identificados por código numérico e armazenados em planilha digital protegida por senha, acessível apenas ao pesquisador responsável e orientadores. Nenhuma informação pessoal será divulgada nos resultados ou publicações. A confidencialidade será preservada conforme os princípios da Resolução CNS 466/12.

2.7.7) Previsão de ressarcimento de gastos:

Não haverá custos previstos aos participantes decorrentes da realização da pesquisa, uma vez que todos os procedimentos serão conduzidos em ambiente universitário, com infraestrutura já disponível. No entanto, caso o participante venha a ter qualquer despesa diretamente relacionada à sua participação na pesquisa — como deslocamentos, alimentação ou outros custos imprevistos —, esses valores serão ressarcidos pelo pesquisador responsável, mediante apresentação de comprovantes. O direito ao ressarcimento de despesas causadas pela participação será garantido. Já despesas não relacionadas diretamente à pesquisa poderão ou não ser reembolsadas, a critério da equipe responsável.

2.7.8) Previsão de indenização e/ou reparação de danos:

Apesar da previsão de mínimos riscos, caso ocorra qualquer dano associado à participação na pesquisa, o participante terá direito à reparação integral, arcada pelo pesquisador e instituição proponente. Os participantes serão informados de seu direito de recorrer ao sistema judiciário para reparação de eventuais danos que julguem relacionados à pesquisa, conforme previsto em lei. O pesquisador se responsabiliza por garantir atenção imediata, inclusive emergencial, caso necessário.

References

1. Li K, Chen S, Wang J, Xiao X, Song Z, Liu S. Tooth bleaching: current status and prospects. *Odontology*. 2024 Jul;112(3):700-710. doi: 10.1007/s10266-024-00914-4.
2. Kwon SR, Wertz PW. Review of the Mechanism of Tooth Bleaching. *J Esthet Restor Dent*. 2015 Sep-Oct;27(5):240-57. doi: 10.1111/jerd.12152. Epub 2015 May 13. PMID: 25969131.
3. Alkahtani R, Stone S, German M, Waterhouse P. A review on dental bleaching. *J Dent*. 2020 Sep;100:103423.
4. Haywood VB, Sword RJ. Tray bleaching status and insights. *J Esthet Restor Dent*. 2021 Jan;33(1):27-38. doi: 10.1111/jerd.12688.
5. Forville H, Favoreto MW, Carneiro TS, Terra R, Pinheiro LA, Borges C, Loguercio AD, Reis A. Bleaching gels used after 1 week of mixing: efficacy, hydrogen peroxide penetration, and physical-chemical properties. *Oper Dent*. 2023 Sep 1;48(5):564-574. doi: 10.2341/23-010-L.
6. Soares DG, Ribeiro AP, Silveira Vargas F, Hebling J, de Souza Costa CA. Efficacy and cytotoxicity of a bleaching gel after short application times on dental enamel. *Clin Oral Investig*. 2013;17(8):1901-9.
7. da Silva KL, Favoreto MW, Centenaro GG, Bernardi LG, Borges CPF, Reis A, Loguercio AD. Can all highly concentrated in-office bleaching gels be used as a single-application? *Clin Oral Investig*. 2023 Jul;27(7):3663-3671. doi: 10.1007/s00784-023-04980-w. Epub 2023 Apr 5. PMID: 37017758.
8. Machado LS, de Oliveira FG, Rocha EP, dos Santos PH, Briso AL, Sundfeld ML, Sundfeld RH. Clinical trial evaluating color change and tooth sensitivity throughout and following in-office bleaching. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2013 Mar-Apr;33(2):209-15. doi: 10.11607/prd.1410.
9. Duque CC, Soares DG, Briso ALF, Ortecho-Zuta U, Oliveira Ribeiro RA, Hebling J, Souza Costa CA. Influence of tooth pigmentation on H₂O₂ diffusion and its cytotoxicity after in-office tooth bleaching. *Operative Dentistry*, 2020, doi: 10.2341/19-013-L.
10. Duque CC, Soares DG, Basso FG, Hebling J, de Souza Costa CA. Bleaching effectiveness, hydrogen peroxide diffusion, and cytotoxicity of a chemically activated bleaching gel. *Clin Oral Investig*. 2014 Jul;18(6):1631-7. doi: 10.1007/s00784-013-1147-4.
11. Krishnakumar K, Tandale A, Mehta V, Khade S, Talreja T, Aidasani G, Arya A. Post-operative sensitivity and color change due to in-office bleaching with the prior use of different desensitizing agents: A Systematic Review. *Cureus*. 2022 Apr 11;14(4):e24028. doi: 10.7759/cureus.24028. PMID: 35547454; PMCID: PMC9090214.
12. Ortiz MIG, Dos Santos JJ, Rodrigues-Filho UP, Aguiar FHB, Rischka K, Lima DANL. Maintenance of enamel properties after bleaching with high-concentrated hydrogen-peroxide gel containing calcium polyphosphate sub-microparticles. *Clin Oral Investig*. 2023 Sep;27(9):5275-5285. doi: 10.1007/s00784-023-05147-3.
13. Ghanbarzadeh M, Ahrari F, Akbari M, Hamzei H. Microhardness of demineralized enamel following home bleaching and laser-assisted in office bleaching. *J Clin Exp Dent*. 2015 Jul 1;7(3):e405-9. doi: 10.4317/jced.51705.

14. Cavalli V, Rosa DA, Silva DP, Kury M, Liporoni PCS, Soares LE, Martins AA. Effects of experimental bleaching agents on the mineral content of sound and demineralized enamels. *J Applied Oral Sciences*, 2018, 4;26:e20170589.
15. de Mendonça RP, Baliza JR, Burey A, Cavalcante LM, Loguercio AD, Calazans FS, Barceleiro MO. *In vitro* analysis of the pH stability of dental bleaching gels during in-office procedures. *J Clin Exp Dent*. 2021 Jan 1;13(1):e22-e29. doi: 10.4317/jced.57367.
16. Cavalli V, Silva BGD, Berger SB, Marson FC, Tabchoury CPM, Giannini M. Decomposition Rate, pH, and Enamel Color Alteration of At-Home and In-Office Bleaching Agents. *Braz Dent J*. 2019 Jul 22;30(4):385-396. doi: 10.1590/0103-6440201902484.
17. Tam L. Effect of potassium nitrate and fluoride on carbamide peroxide bleaching. *Quintessence Int*. 2001 Nov-Dec;32(10):766-70.
18. Palé M, Mayoral JR, Llopis J, Vallès M, Basilio J, Roig M. Evaluation of the effectiveness of an in-office bleaching system and the effect of potassium nitrate as a desensitizing agent. *Odontology*. 2014 Jul;102(2):203-10. doi: 10.1007/s10266-013-0132-3.
19. de Lima TM, França FMG, do Amaral FLB, Turssi CP, Basting RT. The use of desensitizing agents during in-office bleaching might not decrease tooth bleaching sensitivity: a randomized clinical trial. *Int J Esthet Dent*. 2022 Feb 17;17(1):100-114.
20. Maran BM, Vochikovski L, Hortkoff DRA, Stanislawczuk R, Loguercio AD, Reis A. Bleaching sensitivity with a desensitizing in-office bleaching gel: a randomized double-blind clinical trial. *Quintessence Int*. 2020;51(10):788-797. doi: 10.3290/j.qi.a45173.
21. Godoy CE, Consani S, Guimarães AT, Laurindo BM, Mendonça MJ, Camilotti V. Effect of two desensitizing agents applied previous to in-office bleaching on the degree of bleaching and dentin sensitivity: A randomized, controlled, double-blind clinical trial. *Am J Dent*. 2021 Apr;34(2):70-74. PMID: 33940662.
22. Soares DG, Basso FG, Pontes EC, Garcia Lda F, Hebling J, de Souza Costa CA. Effective tooth-bleaching protocols capable of reducing H₂O₂ diffusion through enamel and dentine. *J Dent*. 2014 Mar;42(3):351-8. doi: 10.1016/j.jdent.2013.09.001. Epub 2013 Sep 19. PMID: 24056046.
23. Monteiro RV, Monteiro S Jr, Caldeira de Andrada MA. Clinical evaluation of two in-office dental bleaching agents. *Am J Dent*. 2018 Oct;31(5):239-242. PMID: 30346669.
24. Peixoto AC, Vaez SC, Pereira NAR, Santana CNDS, Soares KDA, Romão ACTR, Ferreira LF, Martins-Filho PRS, Faria-E-Silva AL. High-concentration carbamide peroxide can reduce the sensitivity caused by in-office tooth bleaching: a single-blinded randomized controlled trial. *J Appl Oral Sci*. 2018;26:e20170573. doi: 10.1590/1678-7757-2017-0573.
25. Umscheid CA, Margolis DJ, Grossman CE. Key concepts of clinical trials: a narrative review. *Postgrad Med*. 2011 Sep;123(5):194-204. doi: 10.3810/pgm.2011.09.2475.
26. Zanolli J, Marques A, da Costa DC, de Souza AS, Coutinho M. Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis. *Aust Dent J*. 2017 Sep;62(3):276-282. doi: 10.1111/adj.12494.
27. Shimizu A, Nakashima S, Nikaido T, Sugawara T, Yamamoto T, Momoi Y. Newly developed hardness testing system, "Cariotester": measurement principles and development of a program for measuring Knoop hardness of carious dentin. *Dent Mater J*. 2013;32(4):643-7. doi: 10.4012/dmj.2012-312.
28. Fukuyama M, Kawamoto C, Saikaew P, Matsuda Y, Carvalho RM, Selimovic D, Sano H. Effect of topical fluoride application on enamel after in-office bleaching, as evaluated using a novel hardness tester and a transverse microradiography method. *Eur J Oral Sci*. 2017 Dec;125(6):471-478. doi: 10.1111/eos.12386. Epub 2017 Nov 7.
29. Sugawara T, Nakashima S, Shimizu A, Tagami J, Momoi Y. Evaluation of a new hardness tester (Cariotester): Comparison with transverse microradiography for assessing the inhibitory effect of

- fluoride application on bovine root dentin demineralization. *Dent Mater J.* 2015;34(3):371-8. doi: 10.4012/dmj.2014-297.
30. Igiel C, Lehmann KM, Ghinea R, Weyhrauch M, Hangx Y, Scheller H, Paravina RD. Reliability of visual and instrumental color matching. *J Esthet Restor Dent.* 2017 Sep;29(5):303-308. doi: 10.1111/jerd.12321. Epub 2017 Jul 25. PMID: 28742283.
 31. Lehmann KM, Devigus A, Igiel C, et al. Repeatability of color- measuring devices. *Eur J Esthet Dent.* 2011;6:462–470.
 32. Lehmann KM, Devigus A, Igiel C, et al. Are dental color measuring devices CIE compliant? *Eur J Esthet Dent.* 2012;7:324–333.
 33. Paul SJ, Peter A, Rodoni L, Pietrobon N. Conventional visual vs spectrophotometric shade taking for porcelain-fused-to-metal crowns: a clinical comparison. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2004;24:222–231.
 34. Kielbassa AM, Beheim-Schwarzbach NJ, Neumann K, et al. In vitro comparison of visual and computer-aided pre- and post-tooth shade determination using various home bleaching procedures. *J Prosthet Dent.* 2009;101:92–100.
 35. Hampé-Kautz V, Salehi A, Senger B, Etienne O. A comparative in vivo study of new shade matching procedures. *Int J Comput Dent.* 2020;23(4):317-323. PMID: 33491927.
 36. Borges AB, de Abreu FS, Mailart MC, Zanatta RF, Torres C. Efficacy and Safety of Bleaching Gels According to Application Protocol. *Oper Dent.* 2021 Mar 1;46(2):E105-E116. doi: 10.2341/19-253-L. PMID: 34086959.
 37. Sulieman M, Addy M, Rees JS. Development and evaluation of a method in vitro to study the effectiveness of tooth bleaching. *J Dent.* 2003;31(6):415-22.
 38. Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz Dent J.* 2008;19(1):21-7. doi: 10.1590/s0103-64402008000100004. PMID: 18438555.
 39. Pérez Mdel M, Ghinea R, Rivas MJ, et al. Development of a customized whiteness index for dentistry based on CIELAB color space. *Dent Mater.* 2016;32(3):461-467.
 40. Paravina RD, Ghinea R, Herrera LJ, et al. Color difference thresholds in dentistry. *J Esthet Restor Dent.* 2015;27 Suppl 1:S1-S9.
 41. Kury M, Wada EE, Silva DPD, Tabchoury CPM, Giannini M, Cavalli V. Effect of violet LED light on in-office bleaching protocols: a randomized controlled clinical trial. *J Appl Oral Sci.* 2020;28:e20190720. doi: 10.1590/1678-7757-2019-0720. Epub 2020 May 18. PMID: 32428059; PMCID: PMC7213781.
 42. Palandi SDS, Kury M, Picolo MZD, Coelho CSS, Cavalli V. Effects of activated charcoal powder combined with toothpastes on enamel color change and surface properties. *J Esthet Restor Dent.* 2020 Dec;32(8):783-790.
 43. Alexandria AK, Valença AMG, Cabral LM, Maia LC. Fluoride Varnishes against Dental Erosion Caused by Soft Drink Combined with pediatric liquid medicine. *Brazilian Dental Journal* 2017;28(4):482-488.
 44. Taylor JR. An introduction to error analysis: the study of uncertainties in physical measurements. University Science Books; 1997
 45. Mena-Serrano AP, Garcia E, Luque-Martinez I, Grande R, Loguercio AD, Reis A. A Single-Blind Randomized Trial About the Effect of Hydrogen Peroxide Concentration on Light-Activated Bleaching. *Oper Dent.* 2016 Sep-Oct;41(5):455-464.
 46. Loguercio AD, Servat F, Stanislawczuk R, Mena-Serrano A, Rezende M, Prieto MV, Cereño V, Rojas MF, Ortega K, Fernandez E, Reis A. Effect of acidity of in-office bleaching gels on tooth sensitivity and bleaching: a two-center double-blind randomized clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2017 Dec;21(9):2811-2818.

