

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

ROSANE MARIA ORTH ARGENTA

**ESTUDO *in vitro* DA EFICÁCIA ANTICÁRIE DE UMA
FORMULAÇÃO DE DENTIFRÍCIO CONTENDO FLUORETO
DE SÓDIO E CARBONATO DE CÁLCIO ESTABILIZADOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Cariologia.

PIRACICABA

2001

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

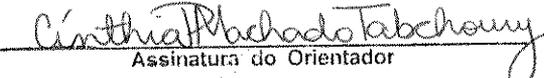
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

ROSANE MARIA ORTH ARGENTA

**ESTUDO *in vitro* DA EFICÁCIA ANTICÁRIE DE UMA
FORMULAÇÃO DE DENTIFRÍCIO CONTENDO FLUORETO
DE SÓDIO E CARBONATO DE CÁLCIO ESTABILIZADOS**

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83

CPG, 28/1/02


Assinatura do Orientador

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas,
para obtenção do título de Mestre em
Odontologia, Área de Cariologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cíntia Pereira Machado Tabchoury

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Belbem

Prof. Dr. Marcelo Giannini

Prof^a. Dr^a. Cíntia Pereira Machado Tabchoury

PIRACICABA

2001

UNIDADE	82
Nº CHAMADA	T/UNICAMP Ar 37e
V	FR
TOMBO B	48239
PROC	16.837102
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	16/04/02
Nº CPD	

CM00166253-6

BIB ID 236331

Ficha Catalográfica

Ar37e Argenta, Rosane Maria Orth.
 Estudo *in vitro* da eficácia anticárie de uma formulação de dentifrício contendo fluoreto de sódio e carbonato de cálcio estabilizados. / Rosane Maria Orth Argenta. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2001.
 x, 84f. : il.

Orientadora : Profª Drª Cíntia Pereira Machado Tabchoury.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Esmalte dentário. 2. Cáries dentárias. 3. Flúor. I. Tabchoury, Cíntia Pereira Machado. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 07 de Dezembro de 2001, considerou a candidata ROSANE MARIA ORTH ARGENTA aprovada.

1. Profa. Dra. CINTHIA PEREIRA MACHADO TABCHOURY Cinthia Machado Tabchoury
2. Prof. Dr. ALBERTO CARLOS BOTAZZO DELBEM Alberto Carlos Botazzo Delbem
3. Prof. Dr. MARCELO GIANNINI Marcelo Giannini

971518008

Dedico este trabalho...

A DEUS,

porque tu és, Senhor, o meu Pastor, por isso nada em minha vida faltará...

À MINHA FAMÍLIA...

AO FÁBIO,

meu marido, co-autor de todos os meus sonhos e companheiro constante na luta pelas realizações. Pelo amor, pelo apoio, pela compreensão, pelo incentivo, por tudo...

À MINHA MÃE,

Frida, pelo exemplo de luta e superação, pelo amor constante, singelo, calmo e confiante...

AO MEU PAI,

Waldomiro, que acompanha, de um lugar muito bonito, todos os momentos da minha vida. Pelo breve exemplo de amor, luta, coragem e dignidade...

À minha sogra, Neiva, pelo apoio e ajuda inestimáveis. Ao meu sogro, José.

À Rúbia e ao Rodrigo pela amizade e apoio.

Aos meus irmãos Ildo, Irio, Alverinho, Alcino, Celso, minhas cunhadas Neli, Laura, Márcia, Marta, Loiva, e aos meus queridos sobrinhos. Pelo apoio, pela amizade constante, por acreditaram na realização dos meus sonhos.

Minha Eterna Gratidão...

Agradecimentos Especiais

*À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Cíntia Pereira Machado Tabchoury.
Por ensinar-me a ir mais além, superando obstáculos e aprendendo a ser cada
vez melhor. Pelos exemplos de dedicação e profissionalismo e pela amizade
demonstrada em todos os momentos.*

*Ao Prof. Dr. Jaime A. Cury.
Pelo apoio e incentivo constantes, pelo estímulo à minha
formação científica e pelo exemplo de seriedade e competência
profissional.*

AGRADECIMENTOS

Ao Magnífico Reitor da UNICAMP, **Prof. Dr. Hermano de Medeiros Ferreira Tavares**.

Ao **Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum**, Diretor da FOP - UNICAMP.

À **Prof^a. Dr^a. Altair A. Del Bel Cury**, Coordenadora Geral da Pós-Graduação da FOP – UNICAMP, pelas sugestões, pela convivência e amizade, e pelo exemplo de competência profissional.

Ao **Prof. Dr. Pedro Luís Rosalen**, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pelas oportunidades de aprendizado científico, pela amizade e convivência.

Ao **Prof. Dr. Jaime A. Cury**, Coordenador da Área de Cariologia, pelas oportunidades de aprendizado científico e colaboração em todos os momentos.

Aos Professores **Fernanda Klein Marcondes, Jaime A. Cury, Marinês Nobre dos Santos Uchôa e Pedro Luís Rosalen**, pelas valorosas sugestões durante o processo de qualificação.

À **Prof^a. Gláucia Maria Bovi Ambrosano**, pela orientação nas análises estatísticas.

Aos Professores do **Programa de Pós-graduação em Odontologia, Área de Cariologia da FOP-UNICAMP**.

Às bibliotecárias da FOP – UNICAMP, **Marilene Girello e Heloísa Maria Cecotti**, pela colaboração e correção da lista de referências bibliográficas.

Aos técnicos do Laboratório de Bioquímica Oral da FOP – UNICAMP,

Mariza de Jesus Carlos Soares, pelo auxílio na realização das análises de concentração de F no esmalte e dosagens de fósforo. E pela amizade e agradável convívio diário.

Waldomiro Vieira Filho, pelo auxílio na preparação dos dentifrícios para o estudo piloto e dosagens de flúor nos mesmos. Pelo auxílio nas dosagens de cálcio nas soluções, e pelo convívio diário.

José Alfredo da Silva, pelo auxílio nas dosagens de flúor, pela atenção e colaboração em todos os momentos.

À Secretária do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, **Maria Elisa dos Santos**, pela constante ajuda, atenção e amizade, pela disposição em todos os momentos.

À Secretária do Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP – UNICAMP **Shirlei Rosana M. Sbravati**, pela ajuda e atenção.

Às secretárias de Pós-Graduação, **Érica Alessandra Pinho** e **Sônia Lordello Arthur**, obrigada pela colaboração, atenção e dedicação.

À técnica do Laboratório de Prótese Parcial Removível da FOP – UNICAMP, **Joselena Casati Lodi**, pela colaboração e atenção.

Ao funcionário do Laboratório de Fisiologia Oral da FOP – UNICAMP, **Carlos Alberto Feliciano**, pela colaboração.

À querida Família do Laboratório de Bioquímica Oral, **Adriana Franco Paes Leme**, **Roberta Dalcico**, **Celso S. Queiroz**, **Mitsue Fujimaki Hayacibara**, **Ynara B. O. Lima**, **Léa M. Bezerra de Menezes**, **Nilza V. Gonçalves**, **Silvana B. Francisco**, **Paulo Perez**, pela amizade e companheirismo constantes, pela ajuda nos momentos difíceis e pela maravilhosa convivência.

À amiga **Adriana**, pela ajuda indispensável em todos os momentos e pela amizade demonstrada desde o primeiro dia no Laboratório de Bioquímica...

À colega **Lidiany**, pelo precioso auxílio durante as ciclagens e documentação fotográfica. À colega **Simone**, pelo auxílio na documentação fotográfica.

Ao amigo e Professor **Fábio Machado Milan**, pela amizade e incentivo à minha formação científica, desde a graduação.

Aos amigos da iniciação científica do Laboratório de Bioquímica Oral **Carla**, **Carolina**, **Magda**, **Lília**, **Renato**, **Danilo**, **Tatiana**, **Gustavo**, **Rodrigo**, **Daniela**, pela constante ajuda, amizade e pela maravilhosa convivência.

Aos colegas e amigos de Pós-Graduação da Área de Cariologia, **Andréa**, **André**, **Fábio Carlos**, **Fábio Mialhe**, **Flávia**, **Iriana**, **Lidiany**, **Luciane**, **Marcelle**, **Márcia**, **Maria José**, **Vanessa**, **Viviane**, pelo convívio, apoio e amizade.

À **FAPESP**, pela concessão de bolsa de mestrado (Proc. 99/12229-3), e auxílio pesquisa (01/00722-9).

*Alcançar o topo da mais alta das montanhas
é o objetivo das pessoas que perseguem um ideal.
É o desafio, o mais estimulante desafio,
chegar lá no alto, em tudo o que se sonha e deseja.*

*E na escalada, quando se chega lá,
percebe-se que sempre haverá
uma montanha mais alta ainda.*

*Ou talvez as nuvens,
o céu infinito além delas.*

*Porque assim é o homem,
infinito em seus desejos,
obstinado em seus desafios.*

O próprio universo da evolução.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	1
RESUMO	3
ABSTRACT	4
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO DA LITERATURA	8
3. PROPOSIÇÃO	35
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
5. RESULTADOS	50
6. DISCUSSÃO	60
7. CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXO 1	83
ANEXO 2	84

Lista de abreviaturas

ppm	Partes por milhão
$\mu\text{g F/g}$	Micrograma de flúor por grama
% vol min	Percentagem de volume de mineral
μg	Micrograma
$\mu\text{g F/cm}^2$	Micrograma de flúor por centímetro quadrado
F	Íon flúor, fluoreto (termo genérico para definir as formas iônica e ionizável do elemento flúor)
MFP	Monofluorofosfato (Na_2FPO_3)
pH	Potencial hidrogeniônico
CaCO_3	Carbonato de cálcio
NaF	Fluoreto de sódio
μm	Micrômetro
M	Molar
HCl	Ácido clorídrico
CaCl_2	Cloreto de cálcio
<i>et al.</i>	e outros (abreviatura de “et alli”)
% PDS	Percentagem de perda de dureza de superfície
KCl	Cloreto de potássio
$\text{C}_2\text{H}_6\text{AsO}_2\text{Na}$	Ácido cacodílico, cacodilato (tampão cacodilato)
TISAB II	Total Ionic Strenght Adjustor Buffer (tampão de ajuste de pH, força iônica e descomplexante). Composição: tampão acetato 1 M, NaCl 1 M, CDTA 0,4%, e NaOH 0,5 M, pH 5,0.
TISAB III	Total Ionic Strenght Adjustor Buffer (tampão de ajuste de pH, força iônica e descomplexante). Composição: água deionizada, cloreto de amônia, acetato de amônia, CDTA e vermelho de cresol.
CPOD	Índice de dentes cariados, perdidos e obturados

CPOS	Índice de superfícies dentais cariadas, perdidas e obturadas
SnF ₂	Fluoreto de estanho
Ca	Cálcio
P	Fósforo
NaOH	Hidróxido de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
CDTA	Ácido tetra acético – C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₈
h	Hora
min	Minuto
s	Segundo
ΔZ	Perda mineral
% vol min x μm	Percentagem de volume de mineral por micrômetro
Sol. Des.	Solução desmineralizadora
Sol. Re.	Solução remineralizadora
DCPD	Fosfato dicálcico dihidratado
mL/mm ²	Mililitro por milímetro quadrado
mg	Miligrama
L	Litro
g	Gramma
μg F/mL	Micrograma de flúor por mililitro
mL	Mililitro
NaH ₂ PO ₄	Fosfato ácido de sódio
mM	Milimolar
nm	Nanômetro
mmol/L	Milimoles por litros

RESUMO

O uso de dentifrícios fluoretados é um dos fatores que levaram ao declínio na incidência de cárie dental. Em acréscimo, foi sugerido que o fluoreto de sódio seria o composto fluoretado mais eficaz em dentifrícios. Assim, um dentifrício experimental com NaF e CaCO₃, abrasivo brasileiro de boa qualidade, foi previamente desenvolvido em uma formulação estabilizada, na qual o flúor foi mantido solúvel. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* o potencial desta formulação experimental interferir na iniciação e progressão de cárie no esmalte dental humano. O potencial anticárie da formulação experimental com diferentes concentrações de F (275, 550 e 1100 ppm F) foi comparado com um controle negativo e com um controle positivo (Crest®). Blocos de esmalte humano foram selecionados para o estudo através de microdureza de superfície. Oitenta blocos foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos e submetidos a ciclagens de pH durante 7 dias, sendo 5 dias de ciclagens e mais 2 dias em solução remineralizante. Os tratamentos com as suspensões dos dentifrícios foram realizados 2 vezes ao dia. Posteriormente, a microdureza de superfície do esmalte, a perda de mineral da lesão de cárie e a concentração de flúor no esmalte foram determinadas. Concluiu-se que a formulação experimental com 1100 ppm F contendo NaF e CaCO₃ estabilizados foi eficaz como agente anticárie, interferindo na dinâmica do processo de cárie dental em um modelo *in vitro* de ciclagens de pH. Em acréscimo, os dados mostraram aumento da eficácia anticárie com o aumento da concentração de flúor na formulação experimental.

ABSTRACT

The decline in the incidence of dental caries may be attributed to the widespread use of fluoridated dentifrices. In addition, sodium fluoride has been suggested as the most effective fluoridated compound in dentifrices. Thus, an experimental dentifrice formulation containing NaF and CaCO₃, a Brazilian abrasive of good quality, was previously developed and fluoride was maintained soluble. Therefore, the aim of the present study was to evaluate *in vitro* the potential of this experimental formulation on inhibition of caries lesion initiation and progression in human dental enamel. The anticaries potential of experimental dentifrices with different concentrations of fluoride (275, 550 and 1100 ppm F) was compared with a negative and positive control (Crest[®]). Human enamel blocks were selected for the study by surface microhardness. Eighty blocks were randomly assigned into the groups and submitted to 7 days of pH cycling, that is, 5 days of alternating demineralization and remineralization plus 2 days in remineralization solution. The treatments with the dentifrice slurries were performed twice a day. After the experimental period, enamel surface microhardness, mineral loss (ΔZ) and fluoride uptake in enamel were determined. In conclusion, the experimental dentifrice formulation with 1100 ppm F, containing NaF and stabilized CaCO₃, was effective as an anticaries agent and was able to interfere with the dynamics of dental caries process in an *in vitro* pH cycling model. In addition, the results showed an increasing anticaries effectiveness with the increase of fluoride concentration in dentifrices.

1. INTRODUÇÃO

A adição de flúor (F) aos dentifrícios no século XX, durante a década de 60 e a expansão do seu uso durante a década de 70 (PETERSSON & BRATTHALL, 1996) contribuíram para o declínio na incidência da cárie dental (BRATTHALL *et al.*, 1996; KRASSE, 1996; CLARKSON *et al.*, 2000). Em acréscimo, a eficácia dos dentifrícios fluoretados no controle das cáries foi comprovada através de estudos clínicos (STEPHEN *et al.*, 1988; BRATHALL *et al.*, 1996; CLARKSON *et al.*, 2000). Sendo assim, os dentifrícios fluoretados são considerados os maiores responsáveis pelo controle da doença cárie (ROLLA & SAXEGAARD, 1990; ROLLA *et al.*, 1991). Assim, para garantir o contínuo benefício anticárie dos dentifrícios fluoretados, a ADA (Associação Dental Americana), em 1985 (Council on Dental Therapeutics), publicou uma série de diretrizes a serem seguidas previamente ao reconhecimento de uma nova formulação. Estas normas salientam a necessidade de avaliar a estabilidade e biodisponibilidade do flúor nas formulações, verificar a capacidade do dentifrício promover remineralização e inibir desmineralização dos tecidos dentais, além de comprovar a incorporação de flúor proveniente do dentifrício no esmalte dental.

Um requisito básico para que um dentifrício seja eficaz como agente anticárie é apresentar flúor solúvel, na forma iônica ou ionizável. Atualmente, fluoreto de sódio (NaF) e monofluorfosfato de sódio (Na_2FPO_3 - MFP) são os compostos fluoretados mais utilizados em dentifrícios. O NaF apresenta F na

forma iônica, e o MFP apresenta F na forma ionizável, ligado covalentemente ao radical fosfato. A solubilidade do F na formulação tem relação direta com o abrasivo utilizado, pois estes 2 componentes podem reagir formando compostos insolúveis que não teriam eficácia anticárie. Sendo assim, em formulações com abrasivos contendo cálcio, o flúor deve estar na forma ionizável (MFP) para garantir compatibilidade química. Por outro lado, em formulações com abrasivos a base de sílica, o flúor também pode estar presente na forma iônica (NaF). As duas formas de flúor são capazes de interferir na dinâmica do processo de cárie, ativando a remineralização e reduzindo a desmineralização do esmalte dental (FORWARD, 1980), desde que incorporadas em uma formulação com abrasivos compatíveis.

Desta maneira, comparações entre a eficácia de dentifrícios contendo NaF ou MFP foram realizadas e algumas pesquisas relataram efeitos superiores de dentifrícios com NaF (EDLUND & KOCH, 1977; LU *et al.*, 1987; RIPA *et al.*, 1987), enquanto outras verificaram similaridade entre os efeitos dos dois agentes fluoretados (MARTHALER, 1971; VOLPE, 1977; SULLIVAN *et al.*, 1995). Diante da falta de consenso, três simpósios foram organizados com o objetivo de avaliar os resultados das pesquisas (STOOKEY *et al.*, 1993; VOLPE *et al.*, 1993; BOWEN, 1995) e, na última conferência realizada em 1994 (BOWEN, 1995), foi concluído que NaF seria mais eficaz do que MFP no controle da progressão das cáries.

Logo, considerando a melhor eficácia do NaF em relação ao MFP, uma formulação contendo o primeiro não poderia conter abrasivo a base de cálcio, o

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

qual reagiria com o flúor formando precipitados insolúveis e ineficazes no controle da cárie dental. Em relação ao Brasil, este fato é uma desvantagem, pois 90% dos dentifrícios comercializados contêm carbonato de cálcio (CaCO_3) como abrasivo, que é matéria prima nacional abundante e de boa qualidade farmacotécnica (YOSHIOKA, 1999*). Por outro lado, a sílica, que é o abrasivo compatível com NaF, não teria reservas suficientes no Brasil para substituir o CaCO_3 , sendo necessária sua importação, o que geraria um aumento do custo do produto, que provavelmente seria repassado para o consumidor. Sendo assim, uma formulação experimental de dentifrício contendo NaF e CaCO_3 estabilizados foi desenvolvida e analisada quanto à concentração e à estabilidade do flúor solúvel. A formulação desenvolvida manteve flúor solúvel, inclusive, em concentrações superiores às de uma marca comercial com MFP e CaCO_3 (FRANCO & CURY, 1997). Entretanto, o efeito anticárie desta nova formulação não foi analisado.

Portanto, tendo em vista a possibilidade de formular um dentifrício contendo NaF e CaCO_3 , contemplando eficácia e custo, fez-se necessário testar esta nova formulação quanto ao seu potencial anticárie. No presente estudo a formulação experimental foi comparada com placebo e com um dentifrício controle positivo - Crest® - Procter & Gamble, USA (WHITE, 1987; GRANT *et al.*, 1999), para avaliar sua capacidade de interferir com a dinâmica dos processos de cárie.

* YOSHIOKA, M. Kolynos do Brasil. São Bernardo do Campo, SP, 1999. [Comunicação pessoal].

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A revisão da literatura foi dividida nos seguintes itens:

2.1 Dentifrícios fluoretados

2.1.1 Estudos sobre a eficácia de dentifrícios contendo NaF;

2.1.2 Estudos comparando dentifrícios com NaF e dentifrícios com MFP;

2.1.3 Dentifrícios fluoretados no Brasil.

2.2 Agentes abrasivos incorporados às formulações de dentifrícios

2.3 Modelos de ciclagens de pH

2.4 Microdureza como método para avaliar perdas e ganhos de mineral

2.1 DENTIFRÍCIOS FLUORETADOS

O uso de dentifrícios é uma prática conhecida há vários séculos. Inicialmente, até mesmo substâncias capazes de causar danos à saúde, como ácidos, eram incorporadas às formulações de pós, pastas ou líquidos. Os dentifrícios eram apenas preparações auxiliares na remoção dos restos alimentares das superfícies dentais, segundo o Conselho de Terapêutica Dental. Formulações mais estáveis e complexas de pastas e cremes foram produzidas no final do século XIX. No transcorrer do século XX, a importância dos dentifrícios para a saúde bucal mudou, sendo reconhecida sua atividade terapêutica (FOULK & PICKERING, 1935).

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

2.1.1 Estudos sobre a eficácia de dentifrícios contendo NaF

A primeira avaliação clínica de um dentifrício fluoretado foi conduzida por BIBBY, em 1945. Este pesquisador defendia a introdução do flúor nos dentifrícios para que este fosse utilizado de forma mais freqüente e em baixas concentrações. O dentifrício por ele estudado continha 0,1% de fluoreto de sódio e um abrasivo a base de carbonato de cálcio. Entretanto, após 2 anos de uso não foram observadas evidências de redução na incidência das cáries. Tal fato ocorreu devido a problemas na formulação, que apresentou um rápido declínio do flúor disponível após a fabricação do dentifrício (ERICSSON, 1961).

Continuando a linha de pesquisa iniciada em 1945, MUHLER *et al.*, em 1955, conduziram um estudo clínico com duração de 1 ano, com o propósito de comparar efeitos anticariogênicos de NaF e SnF₂ em dentifrícios. Os resultados mostraram redução de cárie quando SnF₂ era usado, mas os dentifrícios com NaF, novamente, não tiveram efeito significativo, provavelmente devido aos mesmos problemas de formulação encontrados no estudo de BIBBY (1945).

A ADA, em 1960, reconheceu a eficácia clínica de dentifrícios fluoretados. Porém, nenhuma formulação com NaF foi reconhecida, pois não existiam evidências quanto à eficácia deste composto (“Council on Dental Therapeutics”, 1960).

Como NaF não havia sido um agente anticárie eficaz, a incorporação deste composto fluoretado aos dentifrícios não foi mais estudada até 1961, quando ERICSSON reiniciou esta linha de pesquisas testando diversas formulações de dentifrícios, contendo diferentes formas de F e abrasivos. O pesquisador avaliou a

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

compatibilidade entre estes componentes da formulação. Os resultados mostraram que NaF e MFP não reagem com metafosfato de sódio, bicarbonato de sódio, ou sílica, mas NaF reagia com CaCO_3 e esta reação não ocorria com o MFP. Foi observado que para haver eficácia anticárie seria necessário considerar a forma de flúor, iônico ou ionizável, em função do abrasivo. Ficou concluído que flúor na forma iônica não poderia ser incorporado em formulações de dentifrícios com abrasivos contendo cálcio, pois estes reagiriam formando compostos insolúveis sem eficácia no controle das cáries.

Já considerando a compatibilidade entre agente fluoretado e abrasivo, GRON & BRUDEVOLD, em 1967, a exemplo de MUHLER *et al.* (1955), compararam dentifrícios fluoretados contendo NaF ou SnF_2 . Os pesquisadores avaliaram clinicamente por 2 anos a progressão das cáries, sendo que todos os dentifrícios continham metafosfato de sódio insolúvel como abrasivo. Redução significativa de cáries foi encontrada e os autores sugeriram que NaF é tão eficaz quanto SnF_2 quando incorporado numa formulação adequada. Sugeriram ainda que as falhas nos estudos anteriores com NaF teriam acontecido devido a formulações incompatíveis, delineamento experimental inadequado e pH mais ácido das formulações contendo SnF_2 .

A comprovação da eficácia do NaF impulsionou maior desenvolvimento das pesquisas com este agente fluoretado. REED, em 1973, avaliou clinicamente a eficácia de dentifrícios contendo NaF nas concentrações de 250, 500 ou 1000 ppm F, após 2 anos de uso. Os resultados mostraram redução nos índices CPOD e CPOS, sendo que os dentifrícios nas três concentrações de F foram

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

significativamente mais eficazes que um dentífrício não fluoretado na redução das cáries. Os resultados mostraram relação entre aumento do efeito anticárie e aumento da concentração de F no dentífrício, através dos índices CPOD e CPOS.

Em 1985, o “Council on Dental Therapeutics” estabeleceu as especificações mínimas para que um dentífrício apresente potencial para controlar o processo de cárie: ter F solúvel, estável e reativo.

Outra pesquisa clínica foi publicada em 1988 por JENSEN & KOHOUT. Estes autores avaliaram clinicamente indivíduos de 54 anos de idade ou mais durante um ano, comparando o efeito cariostático de dentífrício fluoretado (1100 ppm F na forma de NaF) e placebo. Os autores apresentaram significativa redução na incidência de cáries radiculares quando o dentífrício fluoretado foi utilizado. O dentífrício fluoretado mostrou redução de 41% para cáries coronárias e redução de 67% na incidência de cáries radiculares.

Em um estudo utilizando o modelo de cárie em ratos, FRANCO (2000) mostrou que um dentífrício com NaF e CaCO₃ estabilizados (1100 ppm F) teve eficácia semelhante a de um dentífrício controle positivo na redução de cáries de sulco e de superfície lisa. Em acréscimo, a mesma formulação com 275 ppm F foi semelhante ao controle positivo em alguns índices de cárie.

2.1.2 Estudos comparando dentífrícios com NaF e dentífrícios com MFP

Atualmente existem formulações comerciais tanto de dentífrícios contendo MFP como de dentífrícios contendo NaF. Este fato gerou uma série de estudos para avaliar a eficácia de um composto em relação ao outro, e, assim, qual agente

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentífrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

seria mais eficaz no controle da iniciação e progressão da cárie dental. Entretanto, é necessário analisar criticamente a metodologia utilizada por pesquisas que comparam estes dois agentes. A hidrólise enzimática do MFP para que o composto libere F na forma iônica deve ser considerada.

Em um trabalho *in vitro* realizado por WHITE, em 1987, os efeitos de dentifrícios fluoretados na remineralização de lesões de cárie foram avaliados. Os resultados mostraram que dentifrícios contendo F iônico (NaF) foram eficazes na remineralização de lesões iniciais de cárie, sob condições que simulam o ambiente oral. Estes dentifrícios disponibilizaram F solúvel, que foi incorporado ao esmalte dental, favorecendo a remineralização deste. O NaF, em dentifrícios, foi equivalente ao fluoreto de amina na incorporação de F à lesão, e ambos mostraram-se mais eficazes que o MFP. A remineralização das lesões de cárie foi associada linearmente com o aumento da dureza superficial dos espécimes analisados.

LU *et al.* (1987) avaliaram clinicamente dentifrícios a base de NaF e MFP. O efeito anticárie de três dentifrícios fluoretados foi comparado em uma avaliação com duração de 3 anos. As formulações continham 1100 ppm F (NaF), 2800 ppm F (MFP) e 2800 ppm F (NaF). O dentifrício com 2800 ppm F na forma de NaF foi superior ao dentifrício com 1100 ppm F (NaF) e ao dentifrício com 2800 ppm F (MFP). Os autores sugeriram que elevadas concentrações de MFP nas formulações não oferecem vantagens sobre a concentração convencional de 1100 ppm F na forma de NaF.

HATTAB, em 1989, considerou em seu estudo o papel dos abrasivos e a necessidade de manter F disponível e reativo nas formulações de dentifrícios. O autor analisou a inativação do F em formulações com NaF e MFP, determinando o F solúvel em 6 dentifrícios. Concluiu que abrasivos a base de cálcio e alumínio inativam em torno de 60-90% do F proveniente de NaF em um dentifrício mantido durante uma semana a temperatura ambiente. Por outro lado, abrasivos contendo sílica são inertes, não reagindo com F proveniente de NaF nem de MFP. Os valores de pH dos dentifrícios analisados permaneceram praticamente estáveis mesmo após o envelhecimento. O autor mostrou que os dentifrícios variam muito quanto à capacidade de disponibilizar F na forma reativa para o ambiente oral e sugere a seleção de um abrasivo compatível com o agente terapêutico da formulação previamente ao desenvolvimento de uma formulação de dentifrício.

Procurando avaliar a eficácia da associação NaF/MFP sobre o biofilme dental, SIDI & WILSON, em 1991, estudaram a composição química do biofilme proximal 01 e 24 h após escovação com dentifrícios fluoretados, os quais continham na formulação NaF, MFP, ou NaF e MFP. Observaram que 01 hora após a escovação os níveis de cálcio, fósforo e flúor encontravam-se aumentados no biofilme, porém 24 horas após, este aumento não foi mais percebido. No entanto, uma hora após a escovação, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos que usaram dentifrícios contendo NaF, MFP, ou NaF + MFP, sugerindo não haver vantagens na associação dos dois agentes fluoretados para a composição do biofilme.

Outro trabalho comparando eficácia de dentifrícios com NaF ou MFP foi realizado por NELSON *et al.* (1992), que utilizaram um modelo de ciclagem de pH simulando um alto desafio cariogênico, onde as amostras permaneciam 17 horas por dia na solução desmineralizante e 6 horas na solução remineralizante, e eram tratadas com as suspensões de dentifrícios duas vezes ao dia, entre as trocas de soluções. A perda mineral foi similar para os grupos tratados com dentifrícios contendo NaF ou MFP, porém, houve maior incorporação de F nas amostras tratadas com dentifrícios com NaF. Os autores sugeriram que o desempenho do MFP relativo ao NaF melhora quando há um desafio cariogênico muito longo e que, nestas condições, os 2 dentifrícios são capazes de diminuir a desmineralização do esmalte, embora o dentifrício com NaF seja mais eficaz em remineralizar as lesões. Porém, este modelo não simula nenhuma condição *in vivo* e nem tampouco a hidrólise do MFP que ocorre na saliva e na placa dental. Assim, estes modelos *in vitro* não podem oferecer conclusões definitivas sobre a eficácia de tais formulações.

Entretanto, esta superioridade do NaF sobre o MFP não foi evidenciada no trabalho de DE PAOLA *et al.* (1993), que conduziram uma avaliação clínica de 3 anos com o objetivo de comparar a eficácia anticárie de dentifrícios com MFP ou com NaF. Após análise dos resultados, concluíram que a eficácia anticárie conferida por dentifrícios com MFP na formulação seria comparável àquela promovida por dentifrícios contendo NaF.

Em uma meta análise que discutiu estudos comparando dentifrícios a base de NaF ou MFP na prevenção do desenvolvimento de cáries, JOHNSON (1993)

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

encontrou melhor desempenho dos dentifrícios contendo NaF. Esta meta análise foi baseada em pesquisas envolvendo mais de sete mil pessoas e concluiu que NaF estava associado com maior redução de cáries quando comparado ao MFP. O índice CPOS foi reduzido em média 0,28 com o uso de dentifrícios contendo NaF quando comparado aos resultados de uso de dentifrícios contendo MFP, por períodos de 2 a 3 anos. Isto representa redução de 6,4% no padrão de desenvolvimento de cáries observado com o MFP. A análise dos estudos com dentifrícios contendo os dois agentes ativos, NaF e MFP, indicou que NaF em combinação com MFP confere maior redução no incremento de CPOS (aproximadamente 0,16 em 2-3 anos), comparando com o MFP na mesma concentração de flúor. Porém, estes produtos com os dois agentes fluoretados não conferiram vantagens sobre aqueles com somente NaF na mesma concentração de F.

Considerando a polêmica, STOOKEY *et al.*, em 1993, fizeram parte de um grupo científico com o objetivo de revisar todas as informações disponíveis comparando os efeitos anticárie do NaF e do MFP. Os autores observaram considerável superioridade do NaF como agente anticárie e atribuíram isto ao fato deste composto possuir 100% do F na forma iônica. Assim, foi recomendando que NaF seja usado preferencialmente ao MFP em dentifrícios fluoretados. Entretanto, a formulação com NaF deve ser preparada com abrasivo compatível e a estabilidade e a disponibilidade do flúor iônico nas formulações devem ser avaliadas. Os autores discutem que esta superioridade pode parecer pequena se considerarmos os períodos de duração dos estudos existentes, entretanto, ao

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

extrapolarmos estes valores para a quantidade de superfícies que permanecerão sem cárie por toda a vida do paciente, os resultados serão visivelmente vantajosos.

Outra revisão de literatura foi realizada por VOLPE *et al.* (1993), que consideraram 10 trabalhos clínicos comparando a eficácia de dentifrícios com F na forma de NaF ou na forma de MFP. Apesar das diferenças existentes entre os delineamentos experimentais dos estudos analisados, os autores concluem que há similaridade de eficácia anticárie entre dentifrícios que contêm NaF e MFP.

Em outro encontro científico internacional, realizado em Londres em 1994 e relatado por BOWEN (1995), foram examinadas e discutidas as evidências científicas do modo de ação e os efeitos clínicos dos dentifrícios contendo NaF e/ou MFP. Os pesquisadores, após análise dos principais artigos que discutem o assunto, chegaram a um consenso de opiniões. Como a maioria das evidências científicas apoiavam a afirmação de que o NaF é o agente mais eficaz na prevenção das cáries, foi concluído que existe superioridade do NaF em relação ao MFP em dentifrícios, quanto à redução clínica da progressão das cáries. No entanto, esta observação é somente válida desde que o NaF seja introduzido numa formulação contendo sílica como abrasivo em concentração semelhante ao MFP.

A hipótese de que um dentifrício com F proveniente de NaF e MFP seria mais eficaz do que outro com F proveniente somente de MFP (ambos com 1000 ppm F) foi testada clinicamente por GLASS & NAYLOR (1997). O dentifrício testado continha 500 ppm F proveniente de NaF e 500 ppm F proveniente de MFP

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

e foi comparado com um controle ativo contendo 1000 ppm F na forma de MFP. Após 3 anos, os dados mostraram redução de cáries 13% superior no grupo que utilizou dentifrício com F proveniente de NaF e MFP do que no grupo que utilizou dentifrício com F proveniente somente de MFP. Esta melhor eficácia provavelmente se deve à maior concentração de flúor iônico no dentifrício, proveniente do NaF, hipótese já sugerida por outros estudos clínicos.

2.1.3 Dentifrícios fluoretados no Brasil

Até aproximadamente 15 anos atrás, apenas 25% dos dentifrícios brasileiros continham flúor (CURY, 1989). Porém, em setembro de 1988, foi agregado flúor ao dentifrício que representava 50% da venda nacional, atualmente denominado Sorriso[®]. Desta forma, a maioria dos brasileiros passaram a utilizar dentifrícios fluoretados, o que provavelmente teve influência na incidência de cáries no país. Dados recentes mostram redução de cárie no Brasil (NARVAI, 1999), a qual tem sido atribuída à tríade água fluoretada, dentifrício fluoretado e reforma sanitária implementada no país entre 1980 e 1990. Em acréscimo, uma regulamentação sobre dentifrícios fluoretados foi implementada no Brasil em 1989, especificando que os dentifrícios fluoretados deveriam conter de 1000 a 1500 ppm F solúvel logo após a fabricação, permanecer com no mínimo 1000 ppm F solúvel após um ano desta data e manter no mínimo 450 ppm F solúvel pelo restante do prazo de validade (BRASIL, Ministério da Saúde, Portaria nº 22, de 20 de dezembro de 1989). Entretanto, esta portaria foi modificada retirando-se o termo

“solúvel”. Assim, seu valor para garantir o potencial do flúor no controle da cárie está comprometido, pois não exigindo-se flúor solúvel nos dentifrícios, há possibilidade de comercialização de um dentifrício contendo F incapaz de interferir na dinâmica dos processos de cárie (ORTH *et al.*, 2001). Um acompanhamento da disponibilidade de flúor nos dentifrícios brasileiros tem sido realizado através de pesquisas que avaliaram solubilidade e disponibilidade do flúor nas formulações, e o desempenho destas em situações favoráveis à des e remineralização dos tecidos dentais.

CURY, em 1996, avaliou a qualidade do F presente em 36 dentifrícios comercializados no mercado brasileiro. Os resultados mostraram que, de uma maneira geral, os dentifrícios do mercado brasileiro apresentavam F em condições adequadas para interferir com o desenvolvimento da cárie.

Em 1998, CURY considerou as mudanças ocorridas no Brasil entre os anos de 1990 e 1998, como redução de cárie e fluoretação de todos os dentifrícios populares. O autor relaciona a situação epidemiológica da cárie com o consumo de cremes dentais, relatando que o Brasil passou a ocupar o 3º lugar no mundo em termos de consumo per capita de dentifrício (antes era o 8º). Atualmente cada brasileiro consome em média 1,4 g de dentifrício/dia, o que representa um aumento de 40% em relação aos anos de 1980 a 1990. O uso de dentifrício fluoretado foi um dos fatores importantes que contribuiu para a mudança do perfil de cárie do povo brasileiro.

Considerando que praticamente todos os dentifrícios consumidos no Brasil são fabricados no estado de SP e distribuídos para as diferentes regiões do país,

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

DUARTE *et al.* (1999) avaliaram o F de dentifrícios adquiridos nas 5 regiões brasileiras logo após a aquisição do dentifrício e após o envelhecimento precoce. Concluíram que os dentifrícios estão de acordo com as normas brasileiras e que apesar de haver algumas diferenças entre a concentração de F nos dentifrícios nas diversas regiões brasileiras, estas não são de magnitude que possam resultar em menor eficácia no controle da cárie dental.

DELBEM *et al.* (in press) avaliaram o potencial cariostático do dentifrício de maior participação no mercado brasileiro. Os autores determinaram o flúor solúvel no produto, a capacidade deste em reagir com o esmalte (biodisponibilidade) e em interferir na dinâmica do processo de cárie do esmalte dental. Os resultados mostraram que o dentifrício possui flúor solúvel e reativo, tendo capacidade de promover incorporação de flúor no esmalte dental. Além disso, o dentifrício avaliado foi mais eficiente que o placebo na redução da progressão das lesões de cárie do esmalte dental humano. Através destes resultados, os autores concluíram que este dentifrício possui potencial cariostático, podendo constituir um agente eficaz para auxiliar o controle das cáries na população brasileira.

Em 1997, FRANCO & CURY desenvolveram uma formulação de dentifrício contendo NaF e CaCO₃ estabilizados. A formulação experimental manteve concentração de flúor solúvel atendendo às normas brasileiras. Em acréscimo, a concentração de flúor no dentifrício desenvolvido foi superior àquela de uma marca comercial contendo MFP-CaCO₃. Entretanto, o efeito anticárie do flúor desta nova formulação não foi avaliado.

Devido à importância dos dentífricos fluoretados na redução das cáries e à recente mudança ocorrida na portaria brasileira que regulamenta a fluoretação dos dentífricos, podendo comprometer seu potencial terapêutico, ORTH *et al.* (2001) analisaram os cinco dentífricos mais consumidos no Brasil e uma nova formulação, lançada na vigência da atual portaria. Os resultados demonstraram que a concentração de F total estava adequada em todos os dentífricos analisados, mas a concentração de F solúvel no dentífrico recém lançado não é adequada para o contínuo controle das cáries dentais. Os autores sugeriram que é necessário revisar a regulamentação atual, a fim de garantir à população brasileira o acesso a dentífricos com F potencialmente ativo em quantidade e qualidade capazes de interferir com o desenvolvimento de cárie dental.

2.2 AGENTES ABRASIVOS INCORPORADOS ÀS FORMULAÇÕES DE DENTIFRÍCIOS

O uso de abrasivos é tão antigo quanto o uso de dentífricos. Quimicamente, os abrasivos sempre foram constituídos por fosfatos, carbonatos, silicatos ou carbono, mas as fontes destes componentes variaram muito. O carbonato de cálcio é usado como abrasivo em dentífricos desde muito tempo. Inicialmente ele foi utilizado devido a sua média capacidade abrasiva, mas na metade do século XIX, seu papel na neutralização dos ácidos bucais foi reconhecido, e esta passou a ser a razão maior para a adição deste componente às formulações (FOULK & PICKERING, 1935). Poucos estudos com este agente

abrasivo são encontrados na literatura, embora o carbonato de cálcio seja utilizado em 92% dos dentifrícios brasileiros (DUARTE *et al.*, 1999). Este fato pode estar relacionado ao pouco uso deste abrasivo em países desenvolvidos, onde o maior número de pesquisas é realizado e o fosfato dicálcico diidratado ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - DCPD) é o principal agente abrasivo utilizado. Outro fator pode ser o estágio ainda inicial em que se encontram as pesquisas com este produto no Brasil, onde a matéria prima é encontrada em abundância.

Um dos primeiros estudos encontrados na literatura foi o de PETERSON (1979), que comparou um dentifrício não fluoretado contendo carbonato de cálcio com um dentifrício fluoretado contendo fosfato dicálcico como abrasivo. O pesquisador não encontrou diferenças na progressão das cáries nos dois grupos experimentais, embora o grupo que utilizou dentifrício a base de carbonato de cálcio tenha apresentado menor número de cáries. Os resultados deste trabalho levam a sugerir que o carbonato de cálcio teria efeito importante, juntamente com o flúor, na formulação do dentifrício, embora cada agente tenha um mecanismo de ação diferente.

Em acréscimo aos estudos de PETERSON, DAVIS & FELLOWES (1981) mostraram que partículas de carbonato de cálcio permaneciam na placa dental após escovação com um dentifrício contendo este composto como abrasivo. Estes autores sugeriram novos estudos para avaliar o efeito destas partículas sobre a produção de ácidos pela placa dental.

Considerando os resultados dos estudos anteriores, DUKE (1986a) mostrou que seria vantajoso introduzir agentes tamponantes que permanecessem

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

disponíveis para neutralizar os ácidos produzidos na placa dental. Relatou que o agente ideal para esta função seria um sal com capacidade tampão, relativamente insolúvel no pH oral normal e mais solúvel em pH ácido. Além disso, seria necessário que partículas deste agente permanecessem incorporadas na matriz da placa dental e não fossem removidas pela saliva. Procurando encontrar o agente abrasivo que desempenhasse tal papel, o autor analisou a queda de pH na placa dental após o uso de duas formulações de dentifrícios não fluoretados, um contendo carbonato de cálcio e o outro contendo alumina como agentes abrasivos. O autor verificou menor produção de ácidos na placa dental após bochecho com sacarose 10%, quando a placa havia sido exposta previamente ao dentifrício a base de carbonato de cálcio. Além disso, o pH teve uma menor queda e foi mais rapidamente restabelecido após exposição aos dentifrícios contendo carbonato de cálcio. O pesquisador demonstrou este efeito após cinco bochechos de sacarose, sendo realizados 5, 15, 25, 35 e 45 minutos após o uso do dentifrício. O autor sugeriu que este efeito era devido ao carbonato de cálcio contido no dentifrício, o qual permanecia incorporado à matriz da placa, tornando-se mais solúvel após queda do pH, quando exercia sua capacidade de tamponar os ácidos.

Prosseguindo nesta linha de pesquisa, DUKE (1986b) estudou o efeito de um dentifrício não fluoretado contendo carbonato de cálcio nas mudanças do pH da placa dental após os desafios cariogênicos proporcionados por uma dieta rica em açúcar. A formulação contendo CaCO_3 foi comparada novamente a uma formulação contendo alumina como abrasivo após 8 horas da escovação. Os

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

resultados mostraram que uma única escovação durante 1 minuto pela manhã com o dentifrício a base de carbonato de cálcio reduziu a produção de ácidos devido à presença de suas partículas na placa dental. Este estudo mostrou que o CaCO_3 permanece na placa durante períodos maiores que 8 horas e resiste a altos desafios cariogênicos. O autor sugere que estas diferenças no pH encontradas após escovação com dentifrícios a base de alumina ou a base de carbonato de cálcio têm significância clínica e representam diferenças no potencial do esmalte em resistir à dissolução por ácidos, podendo ao mesmo tempo estimular a remineralização do esmalte dental devido ao aumento da concentração de íons cálcio e diminuição da concentração de íons hidrogênio.

Dentifrícios contendo o abrasivo DCPD são muito utilizados nos Estados Unidos. Estudos intraorais de remineralização indicam que a associação de DCPD e flúor promove remineralização superior àquela com F somente (ZHANG *et al.*, 1995). SULLIVAN *et al.* (1997) realizaram um estudo para explicar o sinergismo entre DCPD e flúor. Em uma associação de trabalhos *in vitro* e *in vivo*, formulações de dentifrícios com MFP/DCPD, DCPD, NaF/sílica e somente sílica foram avaliadas. Dissolução e retenção intraoral do DCPD foram observadas, além de elevação dos níveis de atividade de Ca no fluido da placa. As atividades de Ca no fluido da placa foram 24% maiores quando o abrasivo DCPD estava presente, e, portanto, os autores sugerem que dentifrícios com DCPD poderiam estimular a remineralização dos tecidos dentais. O Ca proveniente de DCPD foi incorporado *in vivo* ao esmalte e detectado na placa 18 h após o uso do dentifrício.

Os resultados mostraram que a escovação com dentifrícios contendo DCPD libera

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

Ca no ambiente oral, o qual promove remineralização de lesões de cárie em esmalte em combinação com F. Os autores sugeriram que DCPD aumenta atividade de Ca no fluido da placa e o grau de saturação do esmalte e concluíram que o cálcio proveniente do DCPD está disponível no ambiente oral e é capaz de aumentar a eficácia do F.

Outro agente abrasivo incorporado aos dentífricos é bicarbonato de sódio. Usando modelos intra-orais, BLAKE-HASKINS *et al.* (1997) estudaram a acidogenicidade da placa dental após escovação com dentífrico contendo bicarbonato de sódio e flúor. Observaram que o bicarbonato nos dentífricos foi um sistema tampão eficaz para estabilizar o pH e neutralizar os ácidos da placa dental.

Ainda considerando o bicarbonato de sódio, IGNÁCIO *et al.* (1999) avaliaram *in vivo* o efeito de um dentífrico contendo esse agente abrasivo na contagem de estreptococos do grupo mutans, acidogenicidade e composição da placa dental. Os voluntários escovaram os dentes três vezes ao dia com formulações fluoretadas (1500 ppm F) contendo sílica, CaCO_3 ou CaCO_3 + bicarbonato de sódio num delineamento experimental duplo-cego, cruzado com 3 etapas de 30 dias. Os resultados mostraram que o dentífrico contendo bicarbonato de sódio apresentou coletivamente uma tendência de influenciar positivamente os fatores relacionados à carie dental, porém não houve diferença estatística significativa dos dentífricos contendo CaCO_3 ou sílica como abrasivo.

Continuando os estudos a respeito do abrasivo DCPD, iniciados em 1997, SULLIVAN *et al.* (2001) desenvolveram um dentífrico contendo NaF (1100 ppm F) *Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentífrico contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.*

e DCPD. Esta formulação foi comparada *in vitro* a um dentifrício contendo NaF (1100 ppm F) e sílica quanto ao F incorporado ao esmalte e à disponibilidade do cálcio *in vivo*. A eficácia anticárie foi estudada em modelos intra-orais e em animais. O dentifrício contendo NaF/DCPD foi mais eficiente que NaF/sílica na remineralização de lesões de cárie e inibição da desmineralização do esmalte dental. Os autores também mostraram que o abrasivo DCPD, mesmo sem F, possui atividade anticárie. Os resultados mostraram superioridade anticárie da formulação com NaF/DCPD em comparação com as outras formulações.

Devido à importância do CaCO_3 no Brasil e à utilização deste agente abrasivo na grande maioria dos dentifrícios brasileiros, este composto foi avaliado quanto ao seu efeito na redução da desmineralização do esmalte dental (FRANCISCO, 2000). Duas formulações de dentifrícios fluoretados foram comparadas (1500 ppm F – MFP), uma contendo CaCO_3 e a outra contendo sílica como agentes abrasivos, em um estudo *in situ* de curta duração utilizando placa artificial composta por *S. mutans*. Os resultados mostraram redução da desmineralização do esmalte dental quando este foi tratado previamente com dentifrício contendo CaCO_3 e então exposto à sacarose. Foi sugerido que este abrasivo contribuiria para melhorar o efeito do flúor no controle da cárie dental e que o efeito tamponante promovido pelo CaCO_3 teria importância superior ao efeito alcalinizante. Em acréscimo, o CaCO_3 teria capacidade de tamponar ácidos até mesmo em profundidade de 1,0 mm na placa dental. Por outro lado, o autor sugere que os íons cálcio provenientes do CaCO_3 também teriam influência na inibição da desmineralização do esmalte, pois se o produto iônico destes minerais

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

na placa for superior ao produto de solubilidade do esmalte dental, não ocorrerá desmineralização deste, independente do pH. Os resultados deste estudo corroboraram os de PETERSON (1979), DAVIS & FELLOWES (1981) e DUKE (1986 a, b).

2.3 MODELOS DE CICLAGENS DE pH

Com o aumento do número de pesquisas e a valorização da ética nos estudos, modelos *in vitro* foram desenvolvidos e passaram a ser utilizados para a avaliação de dentifrícios sem a imediata necessidade de pesquisas *in vivo*. Os modelos *in vitro* passaram a ter muita importância para estudos relacionados à cárie dental, sendo utilizados por vários pesquisadores previamente a estudos *in vivo*. Devido ao potencial dos modelos de ciclagens de pH, este método foi proposto para os primeiros estudos de terapias preventivas e potencial cariogênico. Esta metodologia se propõe a mimetizar as alterações de pH da curva de Stephan, sendo que os espécimes são submetidos a baixo pH por um período do dia e permanecem em pH neutro no restante do dia. A duração da desmineralização corresponde à soma de vários períodos de decréscimo de pH que ocorrem na placa e na superfície do esmalte durante o dia (TEN CATE & DUIJSTERS, 1982). Diferentes versões de ciclagens de pH foram propostas e uma vantagem deste método é permitir alterações nas suas condições, a fim de simular situações favoráveis à des ou remineralização.

TEN CATE & DUIJSTERS (1982) foram os pioneiros em estudos envolvendo ciclagens de pH. Os autores investigaram as diferenças no mecanismo de remineralização do esmalte dental na presença ou ausência de flúor na água de abastecimento. Utilizaram dentes bovinos com lesão de cárie artificial submetidos a ciclagens de pH. O delineamento experimental consistia em 10 ciclos realizados durante 10 dias. As soluções des e remineralizantes foram formuladas, com pH 4,7 e 7,0, respectivamente, contendo cálcio e fosfato em concentrações próximas às salivares. Em alguns grupos experimentais, F foi adicionado às soluções, as quais eram trocadas diariamente. Alguns grupos experimentais permaneceram 3 horas/dia em solução desmineralizante e outros permaneceram 8 horas/dia, simulando desafios cariogênicos moderado e alto, respectivamente. Ganhos e perdas de minerais foram analisados pelas alterações nas concentração de Ca, PO₄ e F nas soluções des e remineralizantes. Os resultados mostraram maior ganho de Ca e P na solução remineralizante e menor perda de Ca na solução desmineralizante quando F havia sido adicionado às soluções. Os autores mostraram que este modelo laboratorial simula as condições do ambiente oral. A maior diferença deste modelo de ciclagens de pH em relação ao que acontece *in vivo* é o número de vezes em que o pH muda durante 24 h. Com frequências maiores de troca de pH, as observações seriam provavelmente mais pronunciadas. Os pesquisadores puderam avaliar através deste procedimento experimental as diferenças na remineralização do esmalte dental na presença e na ausência de F.

FEATHERSTONE *et al.*, em 1986, utilizaram resultados de experimentos *in vivo* e desenvolveram um modelo de ciclagens de pH com correlação clínica. Este modelo foi uma modificação do modelo descrito por TEN CATE & DUIJSTERS (1982). Os espécimes em estudo permaneceram 6 h/dia na solução desmineralizante (pH 4,3) e este período, segundo os autores, simula o tempo de queda de pH intra-oral para pessoas que se alimentam freqüentemente. O restante do dia, cerca de 17 h, os espécimes permaneceram em solução remineralizante (pH 7,0), simulando o período de ação da saliva. Os autores incluíram um tratamento com dentifrícios realizado uma vez ao dia durante 5 minutos entre as trocas de soluções. As condições encontradas pelos autores com este modelo de ciclagens de pH foram comparáveis qualitativa e quantitativamente às encontradas *in vivo* ao redor de bráquetes ortodônticos durante um mês.

GERRARD & WINTER (1986) desenvolveram um modelo de ciclagens com maior freqüência diária de desafio cariogênico, porém com menor número de dias. As soluções des e remineralizantes foram preparadas com composição similar às descritas anteriormente por TEN CATE & DUIJSTERS (1982), sendo que o pH da solução des era em torno de 5,0 e o pH da solução remineralizante em torno de 6,5 a 6,7. Os espécimes eram imersos em solução desmineralizante durante 5 minutos, seguidos de lavagem e secagem. A seguir eram tratados com suspensão de dentifrício, de acordo com cada tratamento, durante 1 minuto. Após nova lavagem e secagem, os espécimes permaneciam durante 1 hora em solução remineralizante. O ciclo era repetido 4 vezes ao dia, durante 2 dias.

WHITE (1987) publicou um modelo de ciclagem simulando baixo desafio cariogênico, com o qual a remineralização do esmalte dental foi avaliada. O modelo consiste de 12 dias de ciclagens, sendo que as amostras permanecem 2 horas/dia em solução desmineralizante, são tratadas com dentifrícios fluoretados 4 vezes ao dia durante 1 minuto e permanecem o restante do tempo em saliva humana.

Devido à diversidade de modelos de ciclagens de pH existentes, TEN CATE *et al.*, em 1988, realizaram comparações com o objetivo de avaliar a racionalidade destes modelos *in vitro*. Alguns pontos a serem esclarecidos eram o tempo de tratamento com dentifrícios, realização do tratamento antes ou após o intervalo de desmineralização (o que nas situações práticas simularia a aplicação de F antes ou após o consumo de alimentos cariogênicos), tipo de formação da lesão de cárie e pH da solução desmineralizante. Diversas situações foram simuladas, com esmalte humano hígido e bovino cariado. Os resultados foram analisados em termos de dureza e percentagem de mineral da lesão de cárie, presença de Ca nas soluções e de F no esmalte. Os dados sugeriram que curtos períodos de tratamento com dentifrícios fluoretados diários são muito eficazes na inibição da progressão das lesões de cárie, sendo observada pequena vantagem quando o tratamento com dentifrício fluoretado foi realizado depois do período de desmineralização. O tratamento com dentifrício fluoretado resultou em diminuição da quantidade de Ca removido do esmalte em baixo pH, independente do tipo de lesão, tempo de permanência na solução desmineralizante ou tempo de tratamento com dentifrício fluoretado. Os resultados sugeriram que o F

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

incorporado na lesão não é afetado pelo tempo de aplicação do tratamento, mas pelo tipo da lesão e pelo pH. Além disso, em menor pH, mais esmalte é dissolvido, promovendo maior porosidade e aumento dos sítios reativos onde o F pode ser depositado durante o período em que o pH permanece elevado. Os autores sugerem que a presença de flúor nos meios de des-remineralização ou no fluido da lesão pode inibir a desmineralização ou estimular a remineralização do esmalte dental.

DAMATO *et al.* (1990) descreveram um modelo de ciclagens de pH com menor período diário em solução desmineralizante e maior número de dias de duração. Os autores utilizaram este modelo para investigar o efeito de diferentes concentrações de flúor em soluções de tratamento, com as quais os espécimes foram tratados diariamente após o período em que permaneciam em solução desmineralizante. As soluções des e remineralizantes utilizadas continham composição semelhante àquela descrita por TEN CATE & DUIJSTERS (1982). Os espécimes permaneciam 3 h/dia em solução desmineralizante (pH 4,8) e 21 h/dia em solução remineralizante (pH 6,85). Os ciclos foram repetidos diariamente durante 5 semanas.

Para avaliar o efeito do flúor sobre a formação de "CaF₂" no esmalte, GIBBS *et al.* (1995) utilizaram um modelo constituído de 14 ciclos realizados continuamente. As amostras permaneciam 8 h em solução remineralizante e em seguida eram imersas em solução desmineralizante, na qual permaneciam durante 30 minutos. As soluções apresentavam composição semelhante àsquelas utilizadas pelos pesquisadores relatados anteriormente (FEATHERSTONE *et al.*, *Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifricio contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.*

1986, DAMATO *et al.*, 1990) sendo que a solução remineralizante possuía pH 7,3 e a solução desmineralizante possuía pH 5.

A diversidade de modelos de ciclagens de pH existentes reflete o grande número de estudos possibilitados através destas técnicas. A vantagem de controlar condições como tempo de permanência em baixo pH, tempo e número de tratamentos, e composição e pH das soluções des e remineralizantes possibilita a avaliação de produtos para a terapia da cárie, assim como a cariogenicidade de substâncias. Para o presente estudo, foi necessário adaptar um modelo de ciclagens de pH, para possibilitar as avaliações propostas inicialmente (ARGENTA *et al.*, 2001).

2.4 MICRODUREZA COMO MÉTODO PARA AVALIAR PERDA E GANHO DE MINERAL

A formação das lesões de cárie tem relação com perdas e ganhos de minerais pelos tecidos dentais. A magnitude, a localização e extensão destas perdas minerais foram objeto de vários estudos, os quais procuraram quantificá-las através de técnicas diretas e indiretas. A microdureza é um método indireto de quantificar perda mineral, pois não fornece os resultados em quantidade de mineral no tecido analisado, sendo que esta pode ser calculada através de fórmulas que correlacionam dureza e percentagem de mineral. O diamante do tipo KNOOP foi desenvolvido em 1939 pelo pesquisador de mesmo nome e desde então tem sido extensivamente utilizado. A ponta impressora do tipo Knoop é

constituída de diamante, cortado de tal maneira que o ângulo longitudinal formado na parte impressora é de 172,50° e o ângulo transversal desta mesma ponta 130°. Quando uma impressão é feita, com a utilização de uma carga determinada, a penetração aparece em maior extensão longitudinal devido à angulação do diamante (DAVIDSON *et al.*, 1974). Esta técnica tem sido utilizada para determinar efeitos de des e remineralização desde o primeiro estudo *in situ* de KOULOURIDES, em 1966. A microdureza pode evidenciar perdas e ganhos de minerais mesmo em pequena extensão (ARENDS & TEN BOSCH, 1992). Se o tecido perde mineral, o comprimento das impressões aumenta, e se o tecido ganha mineral, o comprimento das impressões diminui.

DAVIDSON *et al.* (1974) avaliaram esmalte bovino e humano procurando relacionar microdureza e conteúdo de cálcio no esmalte hígido e desmineralizado. Os resultados foram similares para esmalte bovino e humano. A menor concentração de cálcio e a menor dureza foram encontradas na mesma profundidade sob a superfície do esmalte. Logo abaixo da superfície, em torno de 16 a 20 µm desta, o esmalte permaneceu relativamente inalterado após o processo de descalcificação. Os autores sugeriram que o conteúdo mineral e a ultraestrutura do esmalte contribuem para a dureza deste.

A relação entre profundidade e dureza de superfície na lesão de cárie foi estudada por ARENDS *et al.* (1980), em dentes bovinos e humanos. Cargas de 50, 100, 200 e 500 g no diamante Knoop foram aplicadas durante 10 segundos. Os resultados mostraram uma relação aproximadamente linear entre profundidade

e dureza de superfície na lesão de cárie, em todas as situações estudadas. O estudo também mostrou uma comparação numérica entre profundidade de lesão em dentes humanos e bovinos desmineralizados sob as mesmas condições.

Uma comparação direta entre microrradiografia quantitativa e microdureza foi realizada por FEATHERSTONE *et al.* (1983), utilizando cáries artificiais em esmalte humano. Coroas dentais foram cortadas na parte central da região de cárie e cada metade foi analisada através de uma técnica, na superfície do esmalte, na lesão de cárie e no esmalte subjacente à lesão. Uma relação linear foi encontrada entre percentagem de volume de mineral determinada através de microrradiografia e a raiz quadrada do número de dureza Knoop. Esta relação foi determinada para esmalte hígido e cariado. Os pesquisadores concluíram que as duas técnicas podem ser utilizadas para avaliar quantidade de mineral na lesão de cárie.

Uma comparação detalhada entre as diversas técnicas de análise de percentagem de mineral em tecido dental hígido e cariado foi realizada por ARENDS & TEN BOSCH (1992). Os autores definiram o parâmetro “ ΔZ ” como um dos principais métodos de análise de perda e ganho de mineral em esmalte e dentina. Este parâmetro é definido como a diferença integrada entre o volume de mineral da amostra com perda mineral e a amostra hígida. Se a amostra for desmineralizada, o ΔZ aumenta em magnitude, mas se a mesma amostra for remineralizada, o ΔZ diminui. Duas técnicas de microdureza são conhecidas: a microdureza de superfície (SMH) e a microdureza do esmalte seccionado

longitudinalmente (CSMH), sendo que essa última permite avaliar indiretamente as mudanças no conteúdo de mineral da amostra estudada.

3. PROPOSIÇÃO

Avaliar *in vitro* o potencial de uma formulação de dentifrício contendo NaF e CaCO₃ estabilizados em interferir na iniciação e progressão das lesões de cárie do esmalte dental humano, comparando seu efeito anticárie com um dentifrício “gold standard”. A formulação experimental foi avaliada em diferentes concentrações de flúor (275, 550 e 1100 ppm) para verificar relação dose-efeito entre concentração de flúor e eficácia anticárie em um modelo de ciclagens de pH.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento Experimental

Blocos de esmalte dental humano obtidos a partir de terceiros molares inclusos apresentando microdureza de superfície entre 360 e 420 KHN foram selecionados para o estudo. Oitenta blocos foram aleatoriamente divididos em 5 tratamentos (n = 16) de forma que a média de dureza de superfície dos mesmos não fosse numericamente diferente para todos os tratamentos. Os grupos experimentais foram: G1) dentifrício controle negativo – placebo (sem F); G2) dentifrício experimental com 275 ppm F; G3) dentifrício experimental com 550 ppm F; G4) dentifrício experimental com 1100 ppm F; G5) dentifrício controle positivo - Crest®. Os blocos foram submetidos a ciclagens de pH para avaliar a capacidade dos dentifrícios em interferir com a dinâmica do processo de cárie. Após as ciclagens de pH, a microdureza de superfície dos blocos de esmalte dental foi novamente analisada, sendo determinada a percentagem de perda de dureza de superfície (%PDS). A dureza do esmalte seccionado longitudinalmente foi determinada, sendo calculada a percentagem de volume de mineral em diferentes distâncias da superfície do esmalte. A concentração de flúor no esmalte e nas soluções des e remineralizantes também foram determinadas.

Delineamento estatístico

Os fatores em estudo foram os dentifrícios em 5 níveis (controle negativo, formulação experimental com 275, 550 ou 1100 ppm F, controle positivo), totalizando 5 grupos experimentais. As unidades experimentais foram 80 blocos dentais (n=16). As variáveis de resposta foram: microdureza de superfície do esmalte; % PDS; ΔZ ; % vol min a cada distância da superfície do esmalte; concentração de F no esmalte; concentração de F nas soluções des e remineralizantes. O delineamento experimental foi totalmente aleatorizado. As análises foram do tipo quantitativa contínua, sendo várias análises com um critério cada. Foi realizada análise de regressão entre: % PDS e ppm F nos dentifrícios experimentais; ΔZ e ppm F nos dentifrícios experimentais; log (concentração de F no esmalte) para primeira e segunda camadas e ppm F nos dentifrícios experimentais.

4.1 Obtenção dos Blocos de Esmalte Dental Humano

A. Confeção dos blocos de esmalte

Terceiros molares humanos inclusos foram coletados em consultórios odontológicos, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, parecer nº 75/2000 (Anexo 1). Os elementos dentais, extraídos por razões clínicas, foram armazenados em recipiente de vidro contendo formol 2% pH 7,0 durante no mínimo 30 dias para desinfecção antes de qualquer procedimento experimental (WHITE, 1987; CURY *et al.*, 1997; 2000). Os dentes foram avaliados através de exame visual com auxílio de lupa e aqueles com fraturas ou trincas no esmalte foram excluídos. Os dentes foram fixados a peças acrílicas para serem cortados com auxílio de cortadeira elétrica e discos de diamante. Após o corte das raízes e face oclusal, obteve-se um fragmento dental da porção central da coroa com 4 mm de espessura, o qual foi novamente fixado à peça acrílica e cortado para obtenção de blocos dentais medindo 4 x 4 mm (PAES LEME *et al.*, in press).

B. Polimento dos blocos dentais

A planificação da dentina foi realizada com auxílio da politriz em baixa velocidade e lixa de granulação 320 (Carbimet Paper Discs), sob refrigeração, deixando os blocos dentais com altura de 2 mm (PERES, 2001). A superfície do esmalte foi lixada e polida na politriz, com lixas de granulação decrescente:

1. Lixa de granulação 600: com esta lixa realizou-se um desgaste no esmalte expondo uma área lixada, que não abrangeu toda a face do fragmento dental. O tempo necessário foi de aproximadamente 30 segundos.
2. Lixa de granulação 1200: com esta lixa foi realizado o polimento do esmalte, durante três minutos.
3. Feltro e suspensão de diamante: o polimento final dos blocos de esmalte foi realizado com pano adesivo de feltro e suspensão de diamante 1 μ , sem refrigeração, durante três minutos.

Após cada polimento, os blocos foram sonicados em água destilada e deionizada por três minutos, a fim de evitar interferência de resíduos de lixa da fase anterior na qualidade do polimento seguinte. Após o polimento final, os blocos foram sonicados imersos em uma solução detergente (Ultramet[®] Sonic Cleaning Solution) diluída na proporção 1:20 em água destilada e deionizada, por três minutos (PERES, 2001).

4.2 Análise da microdureza de superfície do esmalte

Esta determinação inicial da microdureza de superfície do esmalte teve o objetivo de selecionar os blocos para o estudo e, além disso, obter a dureza de superfície inicial de cada bloco para comparação com a dureza de superfície após as ciclagens de pH. Esta análise foi realizada com o auxílio do microdurômetro Future-Tech FM acoplado a um software FM-ARS e penetrador tipo Knoop com carga de 25 gramas por 5 segundos. Cinco impressões foram realizadas, separadas por distância de 100 μ m, no centro do bloco de esmalte. Através desta

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

determinação, os blocos de esmalte com microdureza Knoop de superfície entre 360 a 420 foram selecionados para o estudo.

4.3 Seleção da área nos blocos de esmalte

A área de esmalte estudada foi de 3,14 mm² (DELBEM & CURY, in press). Para a delimitação desta área, papel Contact[®] foi recortado com uma ferramenta que obtinha um círculo com 2 mm de diâmetro (área do círculo = πr^2 : $3,14 \times 1^2 = 3,14 \text{ mm}^2$). Este papel foi colado sobre o esmalte na região central do bloco dental. O bloco dental então foi coberto completamente com esmalte para unhas, e após a secagem deste, o papel Contact[®] foi removido deixando exposta a área selecionada. Para garantir total remoção de possíveis resíduos do papel Contact[®], os blocos de esmalte foram recobertos com guardanapos de papel umedecidos e armazenados em geladeira durante 24 horas. Ao final deste período, todos os resíduos eram facilmente removidos.

4.4 Dentifícios

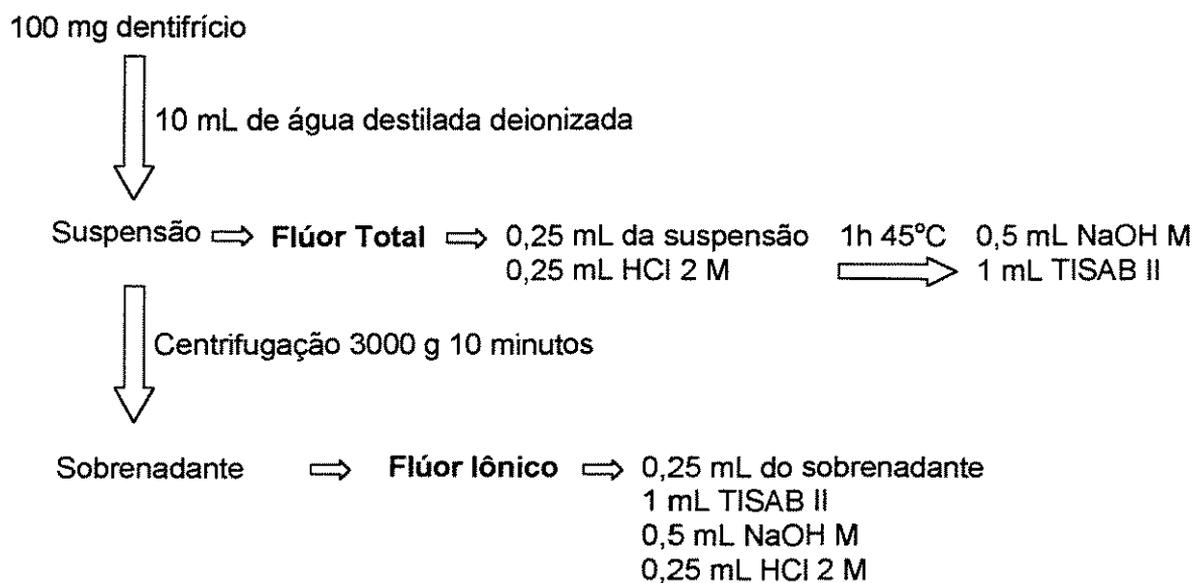
A. Formulação dos Dentifícios Experimentais

As formulações experimentais continham os seguintes reagentes: carboximetilcelulose, propilenoglicol, sorbitol, fluoreto de sódio, água destilada e deionizada, estabilizantes A e B* e carbonato de cálcio. O dentifício placebo continha os mesmos reagentes descritos acima, exceto NaF, e foi utilizado como

controle negativo. Os dentifrícios foram homogeneizados em agitador mecânico. O dentifrício Crest® (1100 ppm F – NaF; abrasivo sílica) foi adquirido e utilizado como controle positivo.

B. Dosagem de Flúor nos Dentifrícios

As amostras dos dentifrícios foram devidamente preparadas para as análises de flúor conforme ilustra o diagrama a seguir:



As dosagens foram realizadas utilizando-se eletrodo específico para íon flúor Orion 96-09 e analisador de íons Orion EA 940. Previamente às leituras, a calibração dos aparelhos foi realizada em triplicata, com soluções padrões de íon flúor, contendo concentrações de 0,125 a 4,0 µg F/mL. Estes resultados estão apresentados no Anexo 2.

*Os estabilizantes não possuem toxicidade segundo Index Merck e Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil, 2ª edição, 1959.

4.5 Ciclagens de pH

A. Formulação das soluções des e remineralizantes

A solução desmineralizante continha 2,0 mmol/L cálcio (CaCl_2), 0,075 mol/L ácido acético, 2,0 mmol/L fosfato (NaH_2PO_4), 0,03 $\mu\text{g F / mL}$, em pH 4,3. A solução remineralizante continha 1,5 mmol/L cálcio (CaCl_2), 150 mmol/L KCl, 0,9 mmol/L fosfato (NaH_2PO_4), 0,05 $\mu\text{g F / mL}$, 20 mmol/L tampão cacodilato ($\text{C}_2\text{H}_6\text{AsO}_2\text{Na}$), em pH 7,4 (FEATHERSTONE *et al.*, 1986; modificado por ARGENTA, 2001). Cristais de timol foram acrescentados a ambas soluções após o seu preparo para evitar crescimento fúngico.

B. Ciclagens de pH

O modelo de ciclagens de pH utilizado foi modificado a partir daquele preconizado por FEATHERSTONE *et al.* (1986), após a realização de estudos pilotos (ARGENTA, 2001).

Os blocos dentais selecionados foram sorteados de acordo com o delineamento experimental (16 repetições para cada grupo). Os tratamentos foram: G1) dentifrício placebo; G2) dentifrício experimental com 275 ppm F; G3) dentifrício experimental com 550 ppm F; G4) dentifrício experimental com 1100 ppm F; G5) dentifrício controle positivo - Crest®. A solução desmineralizante foi utilizada em proporção de 6,36 mL/mm² de esmalte dental, e a solução remineralizante, 3,18 mL/mm². As soluções des e remineralizantes foram

pipetadas em tubos previamente numerados de acordo com cada bloco dental. Os blocos dentais permaneceram 3 h/dia em solução desmineralizante e 20 h/dia em solução remineralizante, sendo que cada bloco de esmalte era imerso individualmente nessas soluções. O tratamento com as suspensões de dentifrícios foi realizado durante 5 minutos, entre as trocas de soluções des e re, sob agitação em mesa agitadora (Figura 1). As suspensões de dentifrícios foram preparadas para cada tratamento e os dentifrícios eram diluídos em proporção 1:3 em água destilada deionizada. Foram utilizados 4 mL de suspensão por mm² de esmalte dental tratado. Os blocos foram lavados com água destilada e deionizada durante 1 minuto e secados com papel absorvente antes e após os tratamentos com os dentifrícios. No dia seguinte, todo o ciclo era repetido. A ciclagem de pH foi realizada durante 5 dias e, posteriormente, os blocos dentais permaneceram por 2 dias em solução remineralizante. Os blocos dentais foram então fixados em peças de acrílico, e a determinação da microdureza de superfície do esmalte após os tratamentos foi realizada no microdurômetro.



SOLUÇÃO REMINERALIZANTE
(3,18 mL/mm²)
Ca 1,5 mM;
PO₄ 0,9 mM;
KCl 0,15 M;
cacodilato 20 mM;
0,05 ppm F;
pH 7,4.

SOLUÇÃO DESMINERALIZANTE
(6,36 mL/mm²)
Ca e PO₄ 2mM;
Tampão acetato 0,075 M;
0,03 ppm F
pH 4,3.

Figura 1. Diagrama ilustrativo das ciclagens de pH

4.6 Análises laboratoriais após as ciclagens de pH

4.6.1 Análise da microdureza de superfície do esmalte

A determinação da dureza foi realizada de forma cega, isto é, o bloco era identificado apenas pelo seu número e não pelo grupo ao qual pertencia. A

determinação foi realizada ao lado das impressões iniciais, utilizando-se carga de 25 g durante 5 segundos. A percentagem de perda de dureza de superfície (%PDS) foi calculada através da fórmula: $\%PDS = (dureza\ inicial - dureza\ final) \times 100 / dureza\ inicial$.

Os 16 blocos de cada grupo experimental foram então sorteados e divididos em 2 grupos de 8 blocos de esmalte. A dureza do esmalte seccionado longitudinalmente foi determinada em um grupo e a concentração de flúor no esmalte foi determinada no outro.

4.6.2 Análise da dureza do esmalte seccionado longitudinalmente

Esta análise foi realizada em 8 blocos de cada grupo experimental. Os blocos dentais foram cortados transversalmente no centro da área de esmalte exposta, em cortadeira elétrica, e embutidos em acrílico. Após, com auxílio da politriz, foi realizado polimento da peça de acrílico contendo o bloco dental embutido, para remover o acrílico sobre o bloco dental e possibilitar leitura de dureza do esmalte seccionado longitudinalmente. Esta análise foi realizada com o auxílio do microdurômetro Future-Tech FM acoplado a um software FM-ARS e penetrador tipo Knoop com carga de 25 gramas por 5 segundos. A leitura foi realizada em triplicata a 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 e 440 μm da superfície dental, em cada bloco de esmalte. Os resultados de dureza do esmalte seccionado longitudinalmente foram transformados em percentagem de volume de mineral através da fórmula: $4,3 \times (\text{Knoop}^{1/2}) + 11,3$ (FEATHERSTONE *et al.*, 1983). O

cálculo da área integrada sob a curva (área formada entre os eixos “y”, “x” e curva do perfil de volume de mineral), em percentagem de volume de mineral x μm , foi obtido através da regra trapezoidal para os blocos tratados. Para cada bloco tratado, uma média da dureza da região hígida (110, 220 e 440 μm da superfície) foi obtida e transformada em percentagem de volume de mineral. O valor desta média de cada bloco foi utilizado nas outras distâncias da superfície (10, 30, 50, 70, 90 e 110 μm) para calcular a área integrada sob a curva como uma projeção para o volume de mineral no esmalte normal. A perda mineral (ΔZ - Figura 2), em % vol min x μm , foi obtida pela subtração da área integrada obtida para o bloco tratado daquela área integrada da projeção para o esmalte normal (OGAARD *et al.*, 1988; ARENDS & TEN BOSCH, 1992; SULLIVAN *et al.*, 1995).

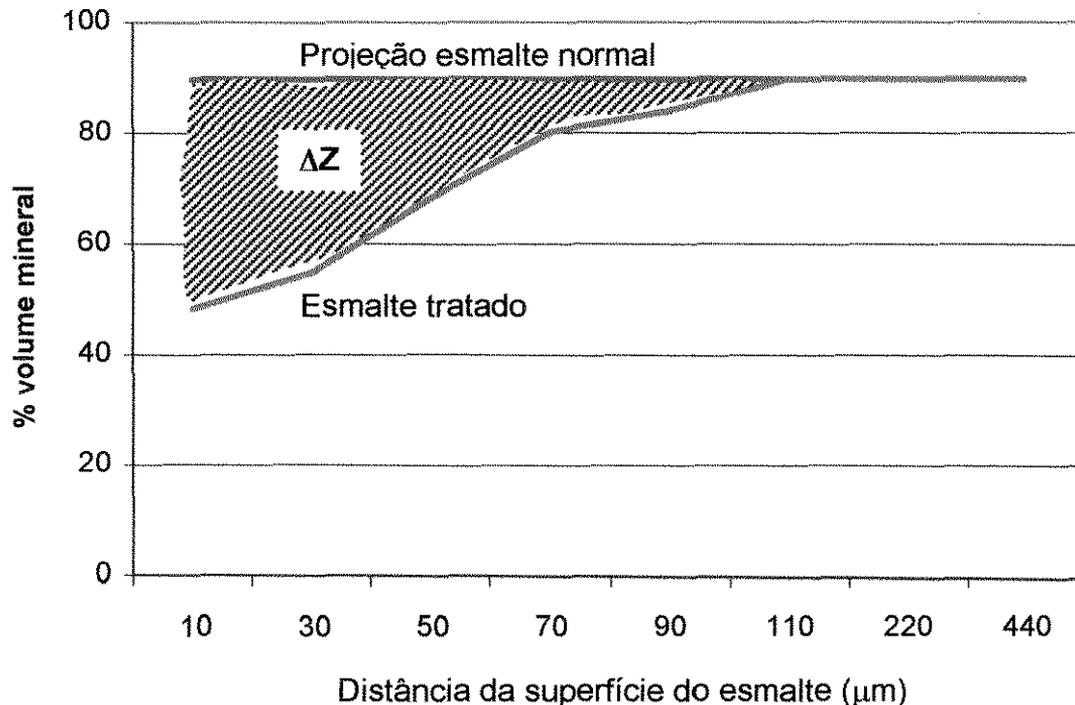


Figura 2. Área correspondente à perda mineral (ΔZ)

4.6.3 Determinação da concentração de flúor no esmalte

Duas camadas de esmalte foram removidas de cada bloco, após agitação com 0,25 mL de HCl 0,5 M. A primeira camada foi removida após 15 segundos, e a segunda, após 30 segundos. O mesmo volume de TISAB II contendo 20 g de NaOH/L foi adicionado aos tubos após cada tratamento, para tamponamento da solução. A concentração de flúor presente em cada camada de esmalte foi determinada em eletrodo específico para íon flúor e analisador de íons, previamente calibrados com padrões contendo de 0,025 a 1,60 µg de flúor por mL. A seguir, as concentrações de fósforo foram determinadas pelo método colorimétrico de FISKE & SUBARROW (1925), em espectrofotômetro calibrado com soluções padrões de fósforo, contendo de 3 a 24 µg, em comprimento de onda de 660 nm. A quantidade de esmalte removido foi estimada considerando haver 17,4% de P no esmalte. A concentração de flúor (ppm) em cada camada foi obtida dividindo-se a quantidade de flúor (µg) pelo grama de esmalte. A espessura de esmalte removido (µm) foi calculada considerando-se a densidade do esmalte igual a 2,92 (LAZZARI, 1976). A concentração de flúor (ppm) a cada distância (µm) da superfície do esmalte foi então calculada.

4.6.4 Determinação da concentração de flúor nas soluções des e remineralizantes antes e após as ciclagens de pH

As concentrações de flúor foram determinadas com eletrodo específico para íons flúor e analisador de íons, previamente calibrados com soluções padrões

contendo concentrações de 0,03125 a 0,5 ppm de flúor. Todas as soluções analisadas e padrões para a curva de calibração foram preparados em TISAB III, 10:1.

4.7 Análise Estatística

As análises foram realizadas considerando a interdependência dos tratamentos deste estudo.

A microdureza de superfície inicial foi avaliada através da análise da variância ao nível de significância de 5%.

A microdureza de superfície do esmalte antes e após os tratamentos foi analisada pelo teste t pareado.

Para a avaliação da percentagem de perda de dureza de superfície e do ΔZ , a análise estatística através do teste de Shapiro-Wilks constatou a normalidade dos dados. Análise de variância foi realizada e os graus de liberdade foram desdobrados em regressão polinomial quadrática. Os grupos experimentais foram então comparados ao controle positivo através do teste de Dunnett ao nível de significância de 5%. Para estas análises foi utilizado o SAS (Software Analysis System).

Em relação à variável concentração de F no esmalte, a análise estatística através do teste de Shapiro-Wilks constatou a normalidade dos dados transformados por $\log(x)$. A análise de variância foi então realizada. Os graus de liberdade dos resultados da concentração de F na primeira camada foram

desdobrados em regressão linear, e os resultados da concentração de F na segunda camada foram desdobrados em regressão polinomial quadrática. Os tratamentos foram então comparados ao controle positivo através do teste de Dunnett ao nível de significância de 5%. Para estas análises foi utilizado o SAS.

Os resultados da % vol. min., em função dos tratamentos e das distâncias da superfície do esmalte, e os resultados das concentrações de F nas soluções des e remineralizantes após as ciclagens de pH não apresentaram distribuição normal ou apresentaram variâncias heterogêneas, mesmo após transformações. Então, foram avaliados através da estatística não paramétrica utilizando o teste de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5%, com o software Bioestat.

5. RESULTADOS

5.1 MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE DO ESMALTE

Os valores de dureza de superfície inicial e após as ciclagens e as percentagens de perda de dureza de superfície (% PDS) do esmalte após as ciclagens de pH são apresentados na tabela 1. As percentagens de perda de dureza de superfície após as ciclagens de pH estão representadas na figura 2 e a relação entre a concentração de flúor nos dentifrícios experimentais e percentagem de perda de dureza da superfície está representada na figura 3.

Tabela 1. Microdureza de superfície dos blocos de esmalte (SMH) inicial e após as ciclagens de pH e percentagem de perda de dureza da superfície (% PDS) em função dos tratamentos (média \pm dp; n=16).

Tratamentos	SMH inicial	SMH após ciclagens	% PDS
Placebo	393,8 \pm 19,9 <i>a, A</i>	85,0 \pm 38,8 <i>B</i>	77,4 \pm 9,4 *
275 ppm F	387,7 \pm 17,6 <i>a, A</i>	161,6 \pm 47,9 <i>B</i>	56,4 \pm 9,0 *
550 ppm F	393,8 \pm 22,1 <i>a, A</i>	154,2 \pm 23,2 <i>B</i>	59,7 \pm 6,6 *
1100 ppm F	387,0 \pm 22,0 <i>a, A</i>	209,6 \pm 30,2 <i>B</i>	47,1 \pm 5,3
Controle Positivo	386,3 \pm 20,3 <i>a, A</i>	195,5 \pm 18,0 <i>B</i>	48,6 \pm 4,7

Coeficiente de determinação $R^2 = 0,8401$.

Tratamentos seguidos por letras minúsculas distintas diferem estatisticamente na vertical ($p < 0,05$). Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem estatisticamente antes e após as ciclagens de pH na horizontal ($p < 0,01$).

* Difere do controle positivo ($p < 0,05$).

A microdureza inicial de superfície dos blocos de esmalte dental não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Todos os grupos apresentaram diminuição significativa da microdureza de superfície após as ciclagens de pH e os respectivos tratamentos. As perdas de dureza de superfície do esmalte nos tratamentos com dentifrício placebo, 275 e 550 ppm F diferiram estatisticamente do controle positivo. Também quanto à %PDS, o tratamento com dentifrício experimental contendo 1100 ppm F não apresentou diferença estatística do controle positivo.

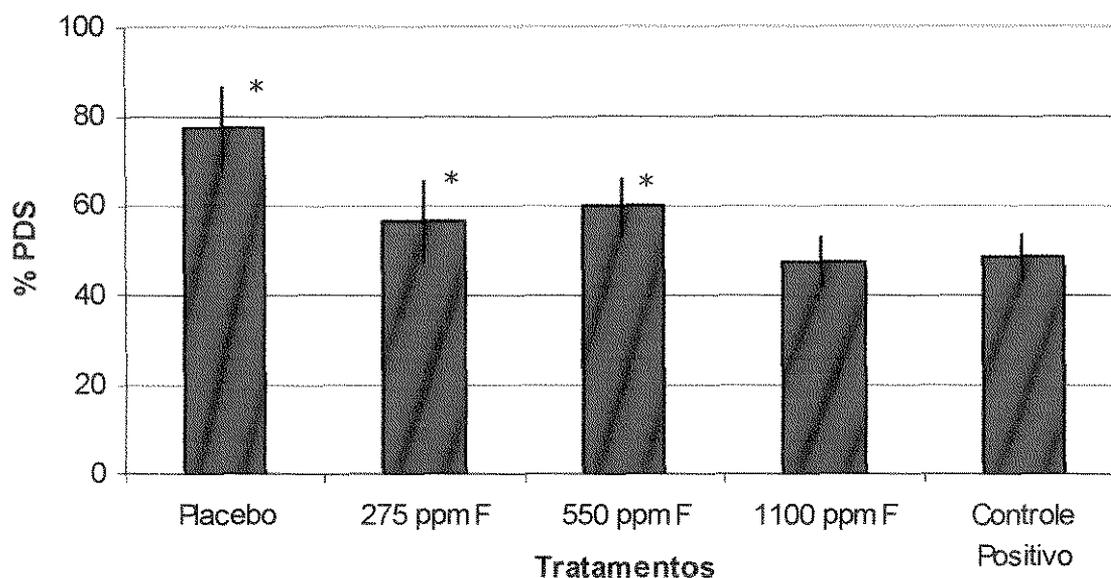


Figura 3. Gráfico de barras representando a porcentagem de perda de dureza da superfície do esmalte em função dos tratamentos.

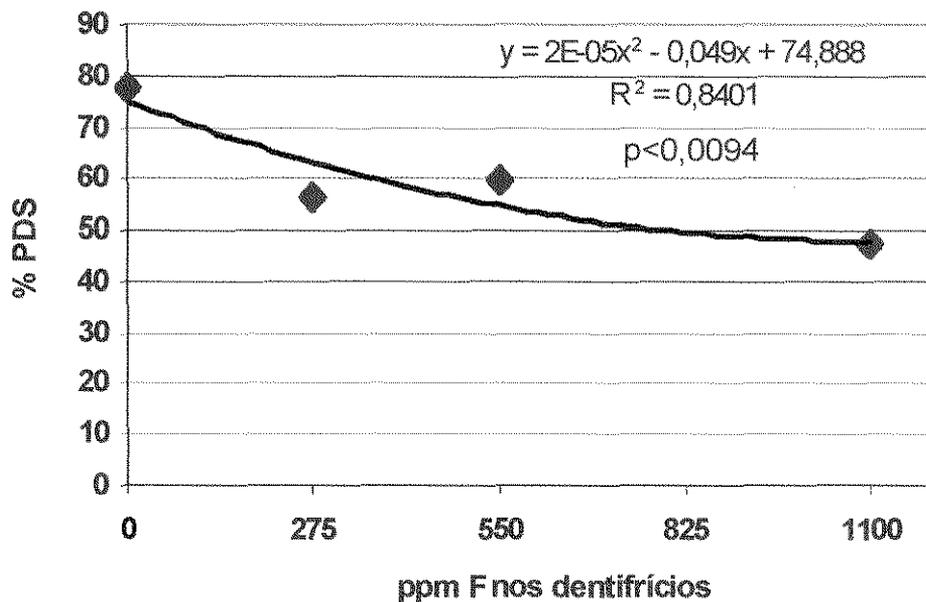


Figura 4. Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da relação entre percentagem de perda de dureza de superfície em função da concentração de F nos dentifrícios experimentais.

A figura 3 mostra que existe uma relação inversa entre concentração de F nos dentifrícios experimentais e percentagem de perda de dureza de superfície do esmalte. Esta regressão polinomial quadrática apresenta um $R^2 = 0,8401$ e é estatisticamente significativa ($p < 0,0094$).

5.2 MICRODUREZA DO ESMALTE SECCIONADO LONGITUDINALMENTE

Os valores de perda mineral (ΔZ) em função dos tratamentos estão apresentados na tabela 2 e representados na figura 5. A relação entre a concentração de flúor nos dentifrícios experimentais e perda mineral está representada na figura 6. A percentagem de volume de mineral na lesão de cárie em função dos tratamentos e distâncias da superfície do esmalte está representada na figura 7.

Tabela 2. Perda mineral (ΔZ) em função dos tratamentos (média \pm dp; n=8).

Tratamentos	ΔZ
Placebo	1495,6 \pm 266,1 *
275 ppm F	571,5 \pm 171,4 *
550 ppm F	451,9 \pm 115,1 *
1100 ppm F	213,0 \pm 78,4
Controle Positivo	232,0 \pm 90,9

Coefficiente de determinação $R^2 = 0,9441$.

* Diferença do controle positivo pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$).

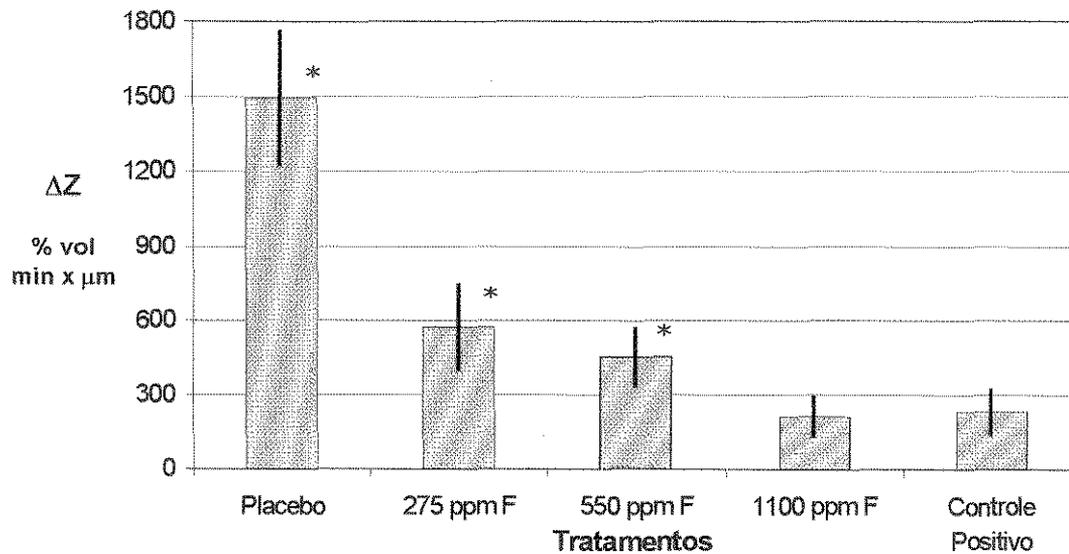


Figura 5. Perda mineral (ΔZ) em função dos tratamentos.

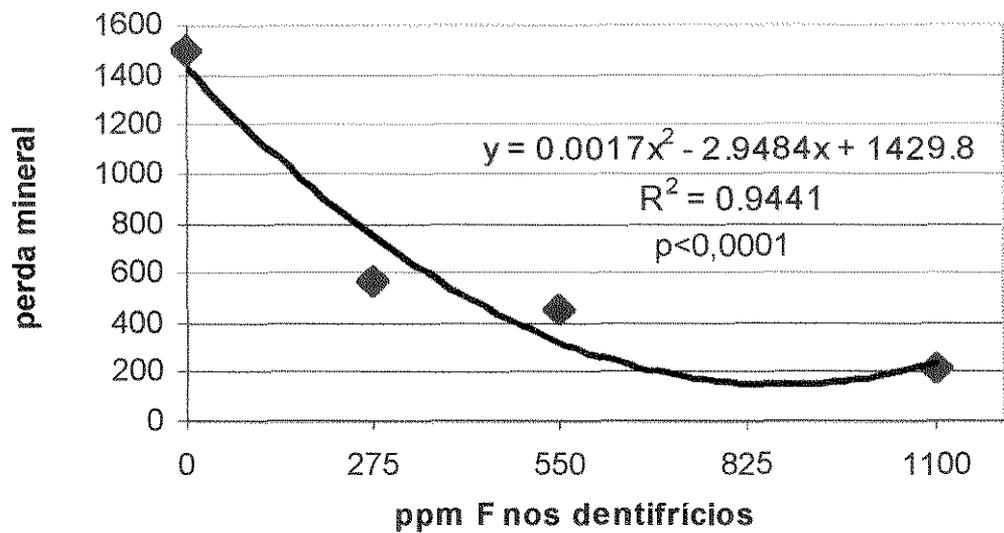


Figura 6. Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da relação entre ΔZ e concentração de F nos dentifrícios experimentais.

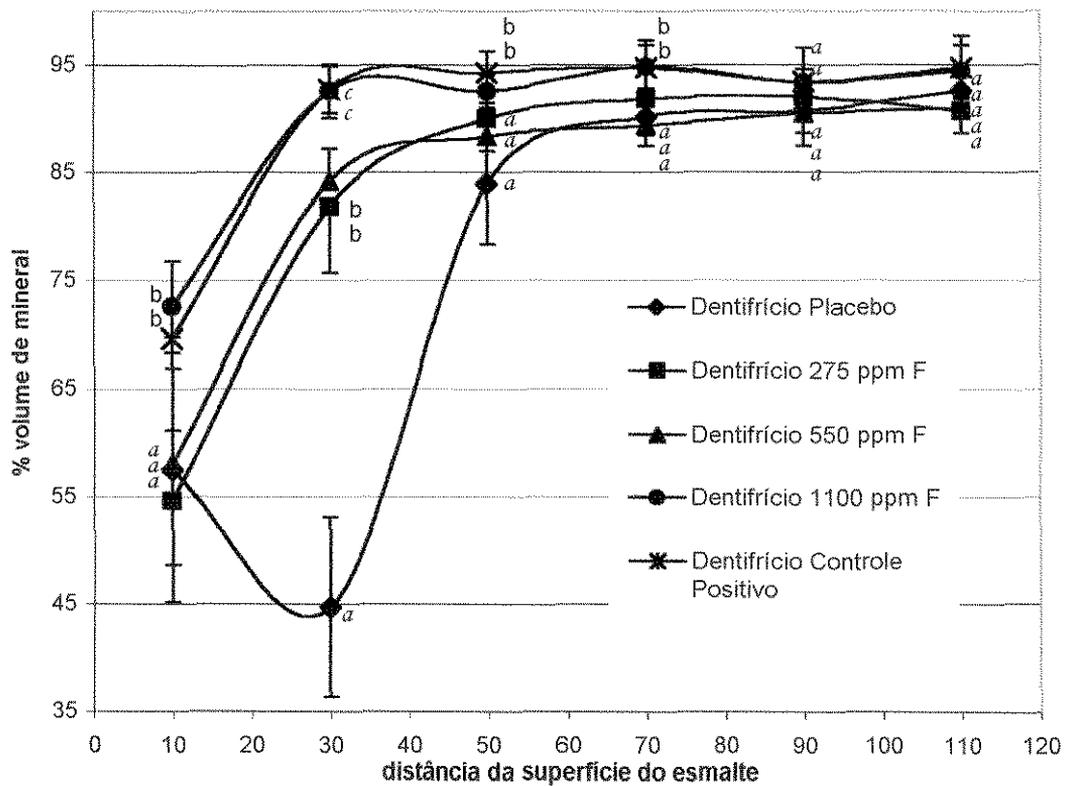


Figura 7. Percentagem de volume de mineral em função dos tratamentos e das distâncias (μm) da superfície do esmalte.

A perda mineral foi maior nos grupos tratados com dentifrício placebo, 275 e 550 ppm F quando comparado ao dentifrício controle positivo (Tabela 2 e figura 5). O tratamento com dentifrício experimental contendo 1100 ppm F não apresentou diferença estatística do controle positivo, porém foi mais eficaz que as outras formulações na redução da progressão da cárie (Figura 6).

A figura 6 mostra a relação inversa entre perda mineral (ΔZ) e concentração de F nos dentifrícios experimentais. Esta regressão polinomial quadrática apresenta um $R^2 = 0,9441$ e é estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

A figura 7 mostra que as percentagens de volume de mineral a 10, 50 e 70 μm de distância da superfície do esmalte foram estatisticamente iguais para os tratamentos com as formulações experimentais placebo, 275 e 550 ppm F. Estes tratamentos diferiram da formulação experimental com 1100 ppm F e do controle positivo. A formulação experimental com 1100 ppm F não diferiu do controle positivo. Porém, na distância de 30 μm da superfície, o tratamento com dentifrício placebo diferiu de todos os tratamentos com dentifrícios fluoretados. Ainda nesta mesma distância, as formulações experimentais com 275 e 550 ppm F não diferiram entre si, mas foram estatisticamente diferentes do tratamento com dentifrício placebo, da formulação experimental com 1100 ppm F e do controle positivo. A formulação experimental com 1100 ppm F foi equivalente ao controle positivo na redução da perda mineral na lesão de cárie a 30 μm da superfície do esmalte.

5.3 CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NO ESMALTE

As concentrações (ppm) de F na primeira e na segunda camadas de esmalte removidas estão apresentadas na tabela 3. As espessuras das camadas de esmalte removidas não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os tratamentos.

Tabela 3. Concentração (ppm; média \pm dp) de flúor no esmalte em função dos tratamentos e da camada removida.

Tratamentos	Espessura da camada (μm)	
	13,86 \pm 0,61 (n=7)	26,87 \pm 3,2 (n=8)
Placebo	4081,5 \pm 951,0 *	2595,2 \pm 363,1 *
275 ppm F	6329,9 \pm 954,7 *	5218,2 \pm 1129,2
550 ppm F	5632,8 \pm 729,3 *	4571,7 \pm 1248,5
1100 ppm F	8346,2 \pm 1560,5 *	5036,2 \pm 1399,5
Controle Positivo	12690,3 \pm 2480,9	4448,8 \pm 2221,9

Coeficiente de determinação $R^2 = 0,7966$

* Difere do controle positivo ($p < 0,05$).

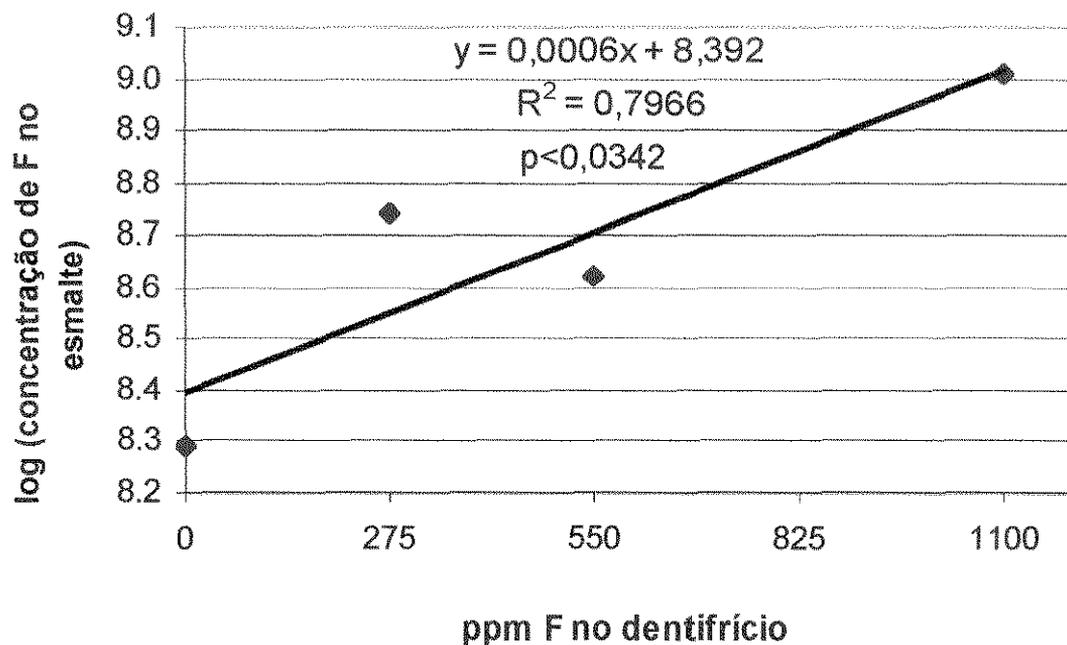


Figura 8. Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da concentração de F na primeira camada removida do esmalte em função da concentração de F nos dentifícios.

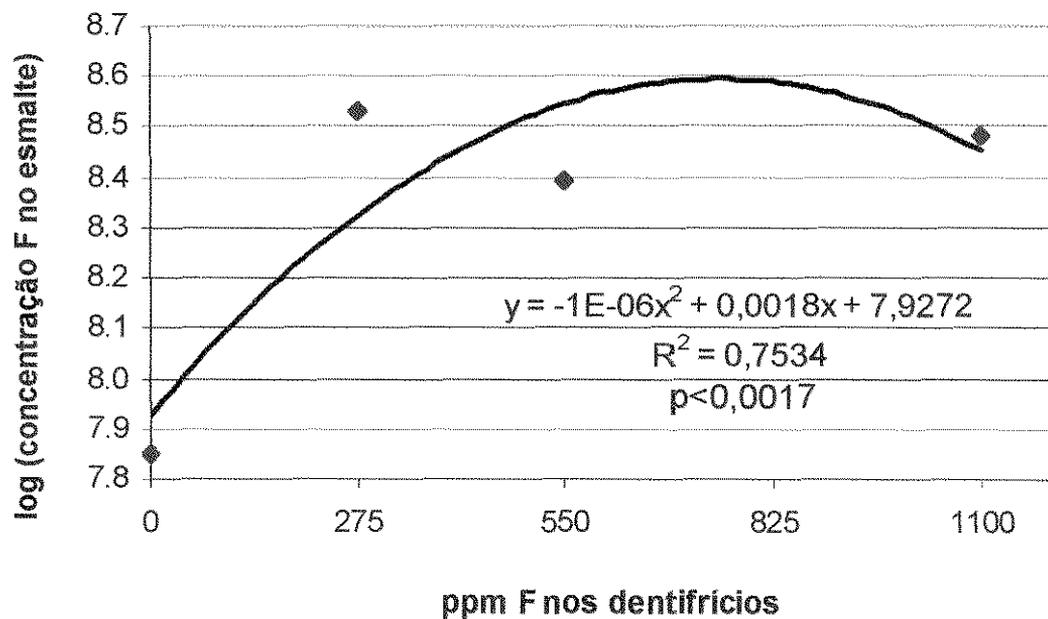


Figura 9. Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da concentração de F na segunda camada removida do esmalte em função da concentração de F nos dentifícios.

A concentração de F na primeira camada de esmalte removida dos grupos tratados com os dentifrícios experimentais diferiu estatisticamente da concentração de flúor do grupo tratado com o dentifrício controle positivo. O resultado da concentração de flúor na primeira camada de um bloco de esmalte foi descartado devido a não homogeneidade da camada de esmalte removida.

Na segunda camada de esmalte removida, somente o grupo tratado com dentifrício placebo diferiu estatisticamente do grupo tratado com o dentifrício controle positivo.

A figura 8 mostra que existe uma relação direta entre o logaritmo da concentração de F na primeira camada removida do esmalte e a concentração de F nos dentifrícios experimentais. Esta regressão linear apresenta um $R^2 = 0,7966$, sendo estatisticamente significativa ($p < 0,0342$).

A figura 9 mostra a relação dose-efeito entre o logaritmo da concentração de F na segunda camada de esmalte removida e a concentração de F nos dentifrícios experimentais. Esta regressão polinomial quadrática apresenta $R^2 = 0,7534$, sendo estatisticamente significativa ($p < 0,0017$).

5.4 CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NAS SOLUÇÕES DES E REMINERALIZANTES

As soluções desmineralizantes continham 0,031 ppm F e as soluções remineralizantes continham 0,05 ppm F anteriormente às ciclagens de pH. As concentrações de F nestas soluções após as ciclagens de pH e o percentual de ganho ou perda de F em função dos tratamentos estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Concentração de flúor nas soluções des e remineralizantes após as ciclagens de pH e percentual de aumento ou redução da concentração de F nestas soluções em função dos tratamentos (média \pm dp; n=16).

Tratamentos	F (ppm)			
	<i>DES</i>	% aumento da concentração de F	<i>RE</i>	% redução da concentração de F
Placebo	0,039 \pm 0,002 <i>a</i>	25,0	0,019 \pm 0,003 <i>a</i>	61,3
275 ppm F	0,045 \pm 0,006 <i>b</i>	45,4	0,023 \pm 0,003 <i>b</i>	54,4
550 ppm F	0,044 \pm 0,002 <i>b</i>	41,4	0,018 \pm 0,003 <i>a</i>	63,8
1100 ppm F	0,046 \pm 0,002 <i>b</i>	48,2	0,024 \pm 0,003 <i>b, c</i>	51,6
Controle Positivo	0,064 \pm 0,014 <i>c</i>	107,1	0,028 \pm 0,005 <i>c</i>	43,8

Tratamentos seguidos por letras distintas diferem estatisticamente ($p < 0,01$).

A concentração de F nas soluções desmineralizantes do grupo tratado com dentífrico placebo foi estatisticamente diferente de todos os tratamentos com dentífricos fluoretados. Os grupos 275, 550 e 1100 ppm F não diferiram significativamente entre si e foram estatisticamente diferentes do controle positivo.

A concentração de F nas soluções remineralizantes do grupo tratado com dentífrico placebo foi estatisticamente diferente de todos os tratamentos, exceto do tratamento com 550 ppm F. As concentrações de F nas soluções remineralizantes dos grupos tratados com 275 e 1100 ppm F não diferiram significativamente entre si, e 1100 ppm F não diferiu do controle positivo.

6. DISCUSSÃO

Apesar da incidência de cárie dental estar diminuindo, a prevalência desta doença ainda é alta (CLARKSON *et al.*, 2000). O uso de dentifrícios fluoretados é uma alternativa comprovadamente eficaz na redução das cáries (STEPHEN, 1994). Portanto, é importante o estudo de novas formulações, que ofereçam eficácia anticárie e menor custo para o consumidor. A avaliação da disponibilidade e estabilidade do flúor em uma formulação de dentifrício e seu efeito em reduzir a desmineralização do esmalte dental são alguns dos requisitos para testar uma nova formulação, segundo a ADA. De acordo com o protocolo do Conselho de Terapêutica Dental, o ideal seria a avaliação clínica dos dentifrícios fluoretados. Entretanto, fatores como amostragem, tempo e custo mostram que a utilização de métodos laboratoriais é fundamental, tanto para a seleção daquelas formulações com maior potencial de eficácia clínica, como para testes comparativos entre formulações equivalentes.

Procurando atender aos primeiros requisitos, a formulação desenvolvida contendo NaF e CaCO₃ estabilizados foi analisada quanto à qualidade do flúor, sendo que foi comprovada a presença de flúor solúvel e estável na formulação (FRANCO & CURY, 1997). No presente estudo, esse dentifrício experimental foi testado em um modelo *in vitro* de ciclagens de pH para avaliar o seu efeito sobre a desmineralização do esmalte dental, comparando o desempenho desta formulação a um dentifrício controle positivo, que possui eficácia comprovada

através de estudos clínicos. A utilização de um dentífrico controle positivo (“gold standard”) é uma prática internacionalmente reconhecida para testar a eficácia de novos produtos (KASHKET & YASKELL, 1997), entretanto, não dispensa a avaliação clínica apropriada de um produto potencialmente eficaz.

Modelos *in vitro* similares ao do presente estudo foram previamente utilizados por TEN CATE & DUIJSTERS (1982), FEATHERSTONE *et al.* (1986) e GERRARD & WINTER (1986). Estes modelos são hoje amplamente utilizados para estudos de desmineralização e remineralização dos tecidos duros do dente. Entretanto, o modelo escolhido deve permitir avaliações de acordo com o objetivo de cada estudo, sendo necessárias adaptações para simular condições favoráveis à desmineralização ou à remineralização dos tecidos dentais. Para este estudo, um modelo de ciclagens de pH favorável à desmineralização do esmalte dental foi utilizado, sendo previamente modificado e testado para permitir as avaliações propostas (ARGENTA, 2001). Após uma semana de tratamento com a utilização deste modelo, foi possível avaliar a microdureza de superfície do esmalte, o que comprova a eficácia do modelo para o estudo preliminar de dentífricos fluoretados, sendo possível a diferenciação entre os tratamentos.

A determinação de microdureza de superfície do esmalte tem sido aceita para avaliar perda e ganho de minerais, sendo que esta técnica possui como vantagem a preservação do corpo de prova, permitindo avaliações antes e após o tratamento (ARENDS *et al.*, 1980). Em acréscimo, este método é considerado mais apropriado para avaliar o início da lesão cáriosa do que sua progressão (ZERO, 1995). No presente estudo, a avaliação da dureza de superfície foi capaz

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentífrico contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

de prever a eficácia dos dentífricos fluoretados no controle da cárie. Todos os dentífricos experimentais fluoretados reduziram a desmineralização da superfície do esmalte quando comparados com o dentífrico placebo, sendo que o aumento da concentração de F teve efeito positivo na preservação da dureza da camada superficial nas condições deste estudo (tabela 1). O dentífrico experimental com 1100 ppm F foi equivalente ao controle positivo, comprovando a eficácia desta formulação experimental em reduzir a perda de dureza de superfície do esmalte. Estes dados mostram que a formulação contendo NaF e CaCO₃ estabilizados manteve flúor solúvel disponível e ativo para interferir no controle do processo cariioso, confirmando a possibilidade de incorporar NaF e CaCO₃ na mesma formulação, desde que estabilizantes apropriados estejam presentes nesta. Os dados do presente estudo estão de acordo com o trabalho de REED (1973), que analisou clinicamente durante dois anos um dentífrico contendo NaF e encontrou redução de 16, 15 e 24% no índice CPOD, e redução de 8, 8 e 20% no índice CPOS, respectivamente, para os tratamentos com 250, 500 e 1000 ppm F. Salienta-se o fato de que, tanto no trabalho de REED (1973) quanto no presente estudo, houve aumento da eficácia anticárie com o aumento da concentração de flúor nos dentífricos. Segundo FEATHERSTONE *et al.* (1990), o efeito do flúor não é função direta da sua concentração no dentífrico, mas depende do logaritmo desta, o que significa que um aumento da concentração de flúor no dentífrico não resultaria em aumento proporcional linear da eficácia anticárie. DUARTE *et al.* (1999) exemplificam que se compararmos um produto com 800 ppm de flúor solúvel em relação a outro com 1000, a tendência seria concluirmos que o produto

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentífrico contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

de 1000 ppm F teria efeito 25% superior, o que, na verdade é menor. Os resultados observados no presente trabalho provavelmente estão relacionados à relação logarítmica entre concentração e atividade de flúor dos dentifrícios, o que torna as formulações com menores concentrações de F com eficácia muito aproximadas, e então, considerando ainda a variação entre as amostras, os resultados podem mostrar em média melhor eficácia da formulação com menor concentração de flúor. Os trabalhos de HODGE *et al.* (1980) e de CONTI *et al.* (1988) também mostraram melhor desempenho anticárie de formulações de dentifrícios contendo em torno de 1100 ppm F em relação às formulações com concentrações menores de flúor. Entretanto, nos trabalhos de KOCH *et al.* (1982), RIPA *et al.* (1987) e CARVALHO *et al.* (1996) este resultado não foi verificado.

Adicionalmente, o efeito dos tratamentos com as formulações experimentais na progressão das lesões de cárie foi avaliado através da determinação da dureza do esmalte seccionado longitudinalmente, sendo que esta análise foi realizada naqueles blocos analisados anteriormente por dureza de superfície. Este método é amplamente utilizado pois, segundo FEATHERSTONE *et al.* (1983), há correlação entre dureza Knoop e porcentagem de mineral na lesão de cárie. Através desta análise, a equivalência de efeitos entre a formulação experimental com 1100 ppm F e o controle positivo foi novamente verificada, assim como a superioridade das formulações fluoretadas em relação à formulação placebo (Figura 5). Estes dados comprovam que a formulação experimental contendo NaF (1100 ppm F) e CaCO₃ estabilizados é eficaz no controle da progressão das lesões de cárie.

Na distância de 30 μm da superfície do esmalte, a quantidade de mineral presente foi maior no tratamento com os dentifrícios fluoretados do que com o tratamento com dentifrício placebo (Figura 7), enquanto que a 50 μm não foi verificado o mesmo comportamento. Este fato sugere o início da formação de uma camada superficial mais mineralizada para os tratamentos com dentifrícios fluoretados. Esta camada mais mineralizada posteriormente se estenderia para a distância de 10 μm da superfície do esmalte, distinguindo a camada superficial mais mineralizada da lesão de cárie subsuperficial que começaria a se formar em torno de 50 μm da superfície do esmalte. A ausência de maior mineralização a 10 μm de distância da superfície no presente modelo experimental é característica da desmineralização inicial, pois no início da formação da cárie há dissolução dos minerais superficiais formando poros que posteriormente serão fechados em decorrência de deposições minerais resultantes das contínuas saturações e subsaturações dos fluidos adjacentes devido às elevações e quedas de pH. Assim, lesões de esmalte que permanecem na cavidade bucal durante anos apresentam camada superficial, a qual é formada lentamente através do tempo (ARENDS & CHRISTOFFERSEN, 1986). Os dados do presente estudo mostram que a presença do flúor nas formulações, mesmo em alta concentração (1100 ppm F), não impediu o início da lesão de cárie, mas inibiu significativamente a sua progressão (CURY, 2001). Segundo FEATHERSTONE *et al.* (1990), numa lesão de cárie inicial, o fluido intercrystalino estará saturado em relação aos cristais adjacentes devido à dissolução dos minerais do esmalte. Quando houver queda

de pH, o flúor presente no interior dos cristais, na fase aquosa intercrystalina, ou aquele que se difunde da placa ao mesmo tempo que o ácido, irá contribuir, juntamente com cálcio e fosfato, para que este fluido atinja a saturação inibindo maiores dissoluções do cristal do esmalte. Desta forma, a melhor eficácia dos dentifrícios contendo 1100 ppm F em relação àqueles contendo 275 e 550 ppm F poderia ser explicada pela maior saturação do fluido intercrystalino naqueles blocos de esmalte tratados com os primeiros dentifrícios. Assim, a menor profundidade de lesão nos blocos tratados com dentifrício experimental de 1100 ppm F poderia ser justificada.

Além do F presente no dentifrício experimental, é provável que o abrasivo carbonato de cálcio também seja importante no controle dos processos de remineralização. Este abrasivo, segundo DUKE (1986a), possui efeito tamponante, podendo reduzir o efeito dos ácidos na desmineralização do esmalte. Como este sal possui baixa solubilidade, seu efeito tamponante é 57 vezes mais efetivo nas partículas do que na solução (IGNÁCIO *et al.*, 1999), as quais ficariam retidas na placa dental para agir durante as quedas de pH. DUKE (1986a) ainda sugeriu que o carbonato de cálcio é o agente tamponante ideal, pois ele é pouco solúvel em pH neutro e torna-se mais solúvel em pH ácido, portanto, ele pode ser estocado em pequenas e densas partículas na placa até ser requisitado para neutralizar ácidos (DAVIS & FELLOWES, 1981). Entretanto, no presente estudo devido à ausência da placa dental, as partículas de CaCO_3 não poderiam permanecer armazenadas para posterior efeito tamponante, o que nos leva a sugerir que o dentifrício testado apresentaria melhor desempenho numa situação

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

em que houvesse presença de placa dental. Em acréscimo, estudos com o uso de aparelhos intra-orais e estudos clínicos podem ser delineados e conduzidos de forma a se verificar este efeito do carbonato de cálcio nesta formulação. Portanto, é provável que o efeito tamponante do carbonato de cálcio neste trabalho tenha sido pequeno, devendo-se apenas ao material proveniente da porção solúvel do CaCO_3 que poderia ficar retida no fluido intercrystalino. Este material, retido no fluido intercrystalino, retardaria a queda de pH no interior do esmalte durante a permanência dos blocos na solução desmineralizante. Por outro lado, considerando o pH dos dentifrícios experimentais (9,8), esta alcalinidade por si só já poderia aumentar o pH do fluido intercrystalino durante o tratamento, e posteriormente, quando o esmalte fosse exposto a baixo pH, este já seria capaz de tamponamento, retardando a queda do pH no interior do esmalte. No entanto, FRANCISCO (2000) sugere que a alcalinidade dos dentifrícios com CaCO_3 não é o fator primordial na neutralização dos ácidos e que o poder tamponante deste abrasivo seria mais relevante. Além disso, DUKE (1986a) demonstrou que o abrasivo CaCO_3 foi capaz de promover rápida elevação do pH após bochecho com sacarose a 10%, o que nos leva a sugerir que após a permanência do esmalte na solução des e conseqüente queda do pH, os dentifrícios com CaCO_3 elevariam o pH mais rapidamente para a neutralidade, diminuindo assim o desafio cariogênico. Esta pode ser uma explicação para a menor perda mineral dos blocos de esmalte tratados com o dentifrício experimental com 1100 ppm F do que aqueles tratados com o controle positivo, que continha sílica como abrasivo. Entretanto, esta diferença não foi significativa (Figura 5). Este efeito poderia ser

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

melhor evidenciado numa situação clínica. DUKE (1986b) sugeriu que as menores quedas de pH observadas a partir da escovação com dentífrico contendo carbonato de cálcio podem ter significância clínica, representando uma diferença real no potencial de dissolução por ácidos do esmalte dental e podendo estimular a remineralização pelo simultâneo aumento da concentração de íons cálcio e redução da concentração de íon hidrogênio. Em acréscimo, o papel dos íons cálcio proveniente deste abrasivo não deve ser ignorado. MORENO (1993) mostrou o papel e o aspecto químico dos íons cálcio, fósforo e flúor na prevenção das cáries. O autor destaca o papel do abrasivo fosfodicálcico diidratado (DCPD) como um agente importante, melhorando de maneira considerável a ação do flúor *in vitro*. Em acréscimo, KOO & CURY (1998) observaram maior remineralização e maior incorporação de flúor ao esmalte *in situ*, quando dentífrico enriquecido com cálcio era utilizado. Isto poderia sugerir que a adição de cálcio solúvel aos dentífricos promoveria maior saturação do fluido do esmalte e da placa, favorecendo a remineralização do esmalte dental.

Em relação ao flúor presente no esmalte, sabe-se que este elemento pode ser incorporado na estrutura da hidroxiapatita por troca iônica ou através dos processos de des e remineralização, e que o esmalte contendo flúor é menos solúvel que o esmalte sem flúor (WHITE, 1987). Segundo WHITE (1987), a incorporação de flúor ao esmalte submetido às ciclagens de pH é consequência do efeito dos dentífricos fluoretados no controle do processo de cárie. No presente estudo, a técnica de biópsia foi utilizada para analisar o flúor presente no esmalte. Pode-se concluir que a maior concentração de flúor no esmalte tratado

com o controle positivo em relação à formulação experimental com 1100 ppm F é devida ao pH das formulações. Todas as formulações experimentais apresentavam pH 9,8, enquanto o pH do dentifrício controle positivo estava em torno de 7,0. Logo, como o pH menor favorece maior reatividade (LARSEN, 2001), e com maior reatividade há maior formação de “CaF₂”, então um dentifrício com pH menor promoverá maior retenção de “CaF₂” no esmalte, o qual será dissolvido durante os desafios cariogênicos, incorporando desta forma mais flúor ao esmalte. Assim, a maior incorporação de flúor no esmalte após o tratamento com o controle positivo é justificada. A situação *in vivo* poderia ser mais complexa, pois o ambiente oral é um sistema aberto e permitiria trocas iônicas entre fluido da placa e saliva nos períodos de queda do pH. Na segunda camada de esmalte removida, foram encontradas diferenças na concentração de flúor somente entre tratamentos placebo e fluoretados, não havendo diferença entre os últimos. Este resultado demonstra que a reação do flúor com o esmalte dental ocorreu mais superficialmente (DELBEM *et al.*, no prelo). Embora a técnica de biópsia remova todo o flúor presente, quer seja flúor fortemente ligado quer seja flúor fracamente ligado, não permitindo distinção entre estes, alguns autores defendem que durante os ciclos de des-remineralização maior quantidade de flúor fortemente ligado é formada (TEN CATE & DUIJTERS, 1983; ROLLA & OGAARD, 1986; ROLLA & SAXEGAARD, 1990). Entretanto, apesar da tendência de considerar o F fracamente ligado mais importante que o fortemente ligado na inibição da dissolução por ácidos, as duas formas parecem ser complementares, pois com as quedas de pH, ambos auxiliam na saturação do fluido do esmalte, diminuindo o

Argenta, R. M. O. Estudo in vitro da Eficácia Anticárie de uma Formulação de Dentifrício contendo Fluoreto de Sódio e Carbonato de Cálcio Estabilizados.

“pH crítico” para 4,5. Porém, a formação de “CaF₂” na superfície dental ou nos microespaços produzidos pela cárie é importante devido à sua maior solubilidade em relação à fluorapatita e à hidroxiapatita. Este material parece ser ideal para a liberação de flúor durante os desafios cariogênicos e posteriores períodos de remineralização devido à sua alta concentração de flúor (KOULOURIDES, 1990).

A análise das concentrações de F nas soluções des e remineralizantes, antes e após as ciclagens, foi realizada para monitorar as perdas minerais ocorridas durante os ciclos de des-remineralização. As soluções desmineralizantes apresentaram maior concentração de flúor após as ciclagens de pH, o que poderia ser explicado pela dissolução do flúor fracamente ligado ao esmalte formado durante o tratamento com os dentífricos. Este aumento da concentração de flúor na solução des, apesar de ser menor que nos outros tratamentos, aconteceu inclusive no tratamento com dentífrico placebo. Apesar de F não ter sido adicionado, a formulação placebo possui pequena quantidade proveniente dos reagentes (13,8 ± 0,5 ppm de F solúvel). Os grupos 275, 550 e 1100 ppm F não diferiram entre si e apresentaram concentração de F menor do que o grupo controle positivo. Este último resultado pode ser justificado pelo menor pH do dentífrico controle positivo e conseqüente maior reatividade deste com o esmalte durante o período de tratamento. Esta reatividade promoveria maior formação de flúor fracamente ligado, que posteriormente seria dissolvido na solução desmineralizante. Por outro lado, as soluções remineralizantes apresentaram menor concentração de flúor após as ciclagens, o que pode ser

explicado pelo estímulo da remineralização durante a permanência dos blocos de esmalte nesta solução, com incorporação de Ca, PO₄ e F ao esmalte dental.

Os resultados do presente trabalho mostram que a formulação experimental com NaF e CaCO₃ estabilizados foi equivalente ao controle positivo na redução da desmineralização superficial do esmalte e na progressão das lesões de cárie. Estes resultados contrariam àqueles encontrados por BIBBY (1945) e por MUHLER *et al.* (1955), os quais não encontraram eficácia clínica dos dentifrícios fluoretados contendo NaF e abrasivos a base de cálcio. Assim, fica claro a importância de manter o flúor solúvel nos dentifrícios, pois nos estudos anteriores o flúor provavelmente estava ligado ao cálcio dos abrasivos (insolúvel), não permanecendo disponível para exercer efeito anticárie. Conseqüentemente estes estudos não evidenciaram redução das cáries clinicamente quando os dentifrícios com NaF e abrasivos a base de cálcio eram utilizados. No presente estudo, a estabilidade e disponibilidade do flúor foram possíveis devido ao efeito dos estabilizantes, e portanto, a formulação mostrou-se eficaz na inibição do processo de cárie, sendo equivalente ao controle positivo, o qual possui eficácia clínica comprovada. Estes dados sugerem a possibilidade de formular um dentifrício eficaz (NaF), com matéria prima nacional (CaCO₃), reduzindo os custos do produto final e garantindo um dentifrício com flúor potencialmente ativo para o controle das lesões de cárie.

7. CONCLUSÃO

A formulação experimental com 1100 ppm F contendo NaF e CaCO₃ estabilizados foi eficaz como agente anticárie, interferindo na dinâmica do processo de cárie dental em um modelo *in vitro* de ciclagens de pH.

Em acréscimo, os dados mostraram aumento da eficácia anticárie com o aumento da concentração de flúor na formulação experimental, observando-se uma relação entre dose-efeito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ARENDS, J.; CHRISTOFFERSEN, J. The nature of early caries lesions in enamel. J Dent Res, Washington, v. 65, n. 1, p. 2-11, Jan. 1986.

ARENDS, J.; TEN BOSCH, J.J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. J Dent Res, Washington, v. 71, Special Issue, p. 924-928, Apr. 1992.

ARENDS, J.; SCHUTHOF, J.; JONGEBLOED, W.G. Lesion depth and microhardness indentations on artificial white spot lesions. Caries Res, Basel, v. 14, p. 190-195, 1980.

ARGENTA, R.M.O. Estudo in vitro da eficácia anticárie de uma formulação de dentifício contendo NaF e CaCO₃. Piracicaba : Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, 2001. Relatório Científico – FAPESP Proc. 99/12229-3.

BIBBY, B.G. A test of the effect of fluoride containing dentifrices on dental caries. J Dent Res, Washington, v. 24, p. 297-303, 1945.

BLAKE-HASKINS, J.C. *et al.* The effect of bicarbonate/fluoride dentifrices on human plaque pH. J Clin Dent, Yardley, v. 8, n. 6, p. 173-177, 1997.

BOWEN, W.H. Relative efficacy of sodium fluoride and sodium monofluorophosphate as anticaries agents in dentifrices. London: Royal Society of Medicine Press, 1995. International Congress and Simposium Series 209.

BRATTHALL, D.; HÄNSEL PETERSSON, G.; SUNDBERG, H. Reasons for the caries decline: what do the experts believe? Eur J Oral Sci, Copenhagen, v. 104, p. 416-422, 1996.

* Baseada na NBR-6023 de ago. de 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos títulos dos periódicos em conformidade com o MEDLINE.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria no 22, de 20 de dezembro de 1989.** Diário Oficial da União. Brasília, p. 241, 22 dez. 1989.

CARVALHO, A.S. *et al.* Avaliação de dentifícios fluoretados. **Rev Gaúcha Odontol**, v. 44, n. 1, p. 17-21, jan/fev. 1996.

CLARKSON, J. *et al.* International collaborative research on fluoride. **J Dent Res**, Washington, v. 79, n. 4, p. 893-904, 2000.

CONTI, A.J. *et al.* A 3-year clinical trial to compare efficacy of dentifrices containing 1.14% and 0.76% sodium monofluorophosphate. **Comm Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v. 16, p. 135-138, 1988.

COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS. Evaluation of Crest toothpaste. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 61, p. 278. 1960.

COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS. Guidelines for the acceptance of fluoride-containing dentifrices. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 110, n. 4, p. 545-547, Apr. 1985.

CURY, J.A. Cárie e creme dental. **J ABOPREV**, São Paulo, ano 9, p. 2, out. 1998.

CURY, J.A. Dentifícios fluoretados no Brasil. **J ABOPREV**, São Paulo, ano 7, p. 3, maio/jun. 1996.

CURY, J.A. Uso do flúor e o controle da cárie como doença. *In*: BARATIERI, L.N. *et al.* **Odontologia restauradora**: fundamentos e possibilidades. 2. ed. São Paulo: Santos, 2001. cap. 2, p. 34-68.

CURY, J.A.; REBELLO, M.A.B.; DEL BEL CURY, A.A. In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. **Caries Res**, Basel, v. 31, p. 356-360, 1997.

CURY, J.A. *et al.* Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. **Caries Res**, Basel, v. 34, p. 491-497, 2000.

DAMATO, F.A.; STRANG, R.; STEPHEN, K.W. Effect of fluoride concentration on remineralization of carious enamel: an in vitro pH-cycling study. **Caries Res**, Basel, v. 24, p. 174-180, 1990.

DAVIDSON, C.L.; HOEKSTRA, I.S.; ARENDS, J. Microhardness of sound, decalcified and etched tooth enamel related to the calcium content. **Caries Res**, Basel, v. 8, p. 135-144, 1974.

DAVIS, W.B.; FELLOWES, B.E. The retention of toothpaste mineral particles by plaque. **J Dent Res**, Washington, v. 60, Special Issue, p. 1169, June 1981. Abstract 119.

DELBEM, A.C.B.; CURY, J.A. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vivo enamel caries. **Am J Dent**, San Antonio. In press.

DELBEM, A.C.B.; VIEIRA, A.E.M.; CURY, J.A. Avaliação do potencial cariostático do dentifrício brasileiro de maior participação no mercado. **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro. In press.

DePAOLA, P.F. *et al.* The relative anticaries effectiveness of sodium monofluorophosphate and sodium fluoride as contained in currently available dentifrice formulations. **Am J Dent**, San Antonio, v. 6, Special Issue, p. S7-12, Sept. 1993.

DUARTE, .F.F.; PISANESCHI, E.; CURY, J.A. Avaliação do flúor dos dentifrícios mais consumidos no Brasil e comercializados nas cinco regiões do país. **Rev ABOPREV**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 3-10, nov. 1999.

- DUKE, S.; FORWARD, G.C. Calcium fluoride and fluoridated hydroxyapatite formation in relation to the acid dissolution rate of enamel mineral. **Caries Res**, Basel, v. 12, p. 12-20, 1978.
- DUKE, S.A. Effect of a chalk-based toothpaste on pH changes in dental plaque in vivo. **Caries Res**, Basel, v. 20, n. 3, p. 278-283, May/June 1986a.
- DUKE, S.A. Effect induced by a chalk-based toothpaste on the pH changes of plaque challenged by a high sugar diet over an 8-hour period. **Caries Res**, Basel, v. 20, n. 4, p. 381-384, July/Aug. 1986b.
- EDLUND, K.; KOCH, G. Effect on caries of daily supervised toothbrushing with sodium monofluorophosphate and sodium fluoride after 3 years. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 85, n. 1, p. 41-45, Jan. 1977.
- ERICSSON, Y. Fluorides in dentifrices: investigations using radioactive fluorine. **Acta Odontol Scand**, Oslo, v. 19, n. 1, p. 41-77, 1961.
- FEATHERSTONE, J.D.B. *et al.* Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. **Caries Res**, Basel, v. 17, p. 385-391, 1983.
- FEATHERSTONE, J.D.B. *et al.* Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. **J Dent Res**, Washington, v. 69, Special Issue, p. 620-625, Feb. 1990.
- FEATHERSTONE, J.D.B. *et al.* Enhancement of remineralization in vitro and in vivo. *In: IRL WORKSHOP ON DE- AND REMINERALIZATION OF THE TEETH*, Turkey 1985. **Proceedings...** Efficus: S.A. Leach, 1986.
- FISKE, C.H.; SUBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorous. **J Biol Chem**, Bethesda, v. 66, p. 375-400, 1925.

FORWARD, G.C. Action and interaction of fluoride in dentifrices. **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v. 8, p. 257-266, 1980.

FOULK, M.E.; PICKERING, E. A history of dentifrices. **J Am Pharm Assoc**, Washington, v. 24, n. 11, p. 975-981, Nov. 1935.

FRANCISCO, S.B. **Efeito de formulações de dentifícios com CaCO₃ versus SiO₂ na inibição da desmineralização do esmalte dental – estudo in situ.** Piracicaba, 2000. 130 p. Tese (Doutorado em Biologia e Patologia Buco-Dental) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

FRANCO, E.M. **Avaliação de uma formulação estabilizada de dentifício contendo NaF/CaCO₃, utilizando o modelo animal de cárie experimental.** Piracicaba : Faculdade de Odontologia de Piracicaba/UNICAMP, 2000. Relatório Científico – FAPESP Proc. 98/11705-3.

FRANCO, E.M.; CURY, J.A. Desenvolvimento de uma formulação de dentifício contendo NaF/CaCO₃. **An Soc Bras Pesqui Odontol**, São Paulo, v. 14, 1997. Resumo.

GERRARD, W.A.; WINTER, P.J. Evaluation of toothpastes by their ability to assist rehardening of enamel in vitro. **Caries Res**, Basel, v. 20, p. 209-216, 1986.

GIBBS, C.D. *et al.* Effect of low levels of fluoride on calcium uptake by demineralized human enamel. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 40, n. 9, p. 879-881, 1995.

GLASS, R.L.; NAYLOR, M.N. A clinical trial of two fluoride dentifrices in an area of low caries prevalence. **Community Dental Health**, London, v. 14, p. 74-78, 1997.

GRANT, L.P.; THOMPSON, A.; TANZER, J.M. Caries inhibition in rats by a remineralizing toothpaste. **J Clin Dent**, Yardley, v. 10, spec issue, p. 30-33, 1999.

- GRON, P.; BRUDEVOLD, F. The effectiveness of NaF dentifrices. **ASDC J Dent Child**, Chicago, v. 34, p. 122-127, Mar. 1967.
- HATTAB, F.N. The state of fluorides in toothpastes. **J Dent Res**, Washington, v. 17, p. 47-54, 1989.
- HODGE, H.C. *et al.* Caries prevention by dentifrices containing a combination of sodium monofluorophosphate and sodium fluoride. **Br Dent J**, London, v. 149, p. 201-204, 1980.
- IGNÁCIO, R.F.; PERES, P.E.C., CURY, J.A. Efeito de um dentifrício fluoretado contendo bicarbonato de sódio na contagem de estreptococos do grupo mutans, acidogenicidade e composição da placa dental. **Rev Odontol Univ Sao Paulo**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 43-49, jan./mar. 1999.
- JENSEN, M.E.; KOHOUT, F. The effect of a fluoridated dentifrice on root and coronal caries in an older adult population. **J Am Dent Assoc**, v. 117, p. 829-832, 1988.
- JOHNSON, M.F. Comparative efficacy of NaF and SMFP dentifrices in caries prevention: a meta-analytic overview. **Caries Res**, Basel, v. 27, p. 328-336, 1993.
- KASHKET, S.; YASKELL, T. Effects of a high-bicarbonate dentifrice on intraoral demineralization. **Compendium**, v. 18, suppl. 21, p.11-16, 1997.
- KOCH, G. *et al.* Effect of 250 and 1000 ppm fluoride dentifrices on caries: a three-year clinical study. **Swed Dent J**, Jönköping, v. 6, p. 233-238, 1982.
- KOO, H.; CURY, J.A. Soluble calcium/SMFP dentifrice: effect on enamel fluoride uptake and remineralization. **Am J Dent**, San Antonio, v. 11, n. 4, p. 173-176, Aug. 1998.

KOULOURLIDES, T. Experimental changes of enamel mineral density. *In*: HARRIS, R.S. **Art and science of dental caries research**. New York : Academic Press, 1966. p. 335-378. *Apud* DAVIDSON, C.L.; HOEKSTRA, I.S.; ARENDS, J. Microhardness of sound, decalcified and etched tooth enamel related to the calcium content. **Caries Res**, Basel, v. 8, p. 135-144, 1974.

KOULOURLIDES, T. Fluoride and the caries process. **J Dent Res**, Washington, v. 69, Special Issue, p. 558, Feb. 1990.

KRASSE, B. The caries decline: is the effect of fluoride toothpaste overrated? **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v. 104, p. 426-429, 1996.

LAZZARI, E.P. **Dental biochemistry**, 2nd ed. London : Lea & Febiger, 1976.

LARSEN, M.J. Prevention by means of fluoride of enamel erosion as caused by soft drinks and orange juice. **Caries Res**, Basel, v. 35, n. 3, p. 229-234, May/Jun., 2001.

LU, K.H. *et al.* A three-year clinical comparison of a sodium monofluorophosphate dentifrice with sodium fluoride dentifrices on dental caries in children. **ASDC J Dent Child**, Chicago, v. 54, n. 4, p. 241-244, July/Aug. 1987.

MARTHALER, T.M. Confidence limits of results of clinical caries tests with fluorine administration. **Caries Res**, Basel, v. 5, p. 343-372, 1971.

MORENO, E.C. Role of Ca-P-F in caries prevention: chemical aspects. **Int Dent J**, London, v. 43, n. 1, p. 71-80, 1993.

MUHLER, J.C. *et al.* A comparison between the anticariogenic effects of dentifrices containing stannous fluoride and sodium fluoride. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 51, p. 556-559, Nov. 1955.

NARVAI, P.C.; FRAZÃO, P.; CASTELLANOS, R.A. Declínio na experiência de cárie em dentes permanentes de escolares brasileiros no final do século XX. Odontol Soc, São Paulo, v. 1, n. 1/2, p. 25-29, 1999.

NELSON, D.G.A. *et al.* High resolution fluoride profiles of artificial in vitro lesions treated with fluoride dentifrices and mouthrinses during pH cycling conditions. Caries Res, Basel, v. 26, p. 254-262, 1992.

OGAARD, B.; ROLLA, G.; ARENDS, J. In vivo progress of enamel and root surface lesions under plaque as a function of time. Caries Res, Basel, v. 22, p. 302-305, 1988.

ORTH, R.M. *et al.* Concentração de flúor nos principais dentifícios comercializados no Brasil e impacto da nova portaria de regulamentação. Rev Odonto Cienc, Porto Alegre, v. 16, n. 32, p. 27-33, jan. /abr. 2001.

PAES LEME, A.F. *et al.* The effect of fluoridated dentifrice and/or acidulated phosphate fluoride application on early artificial caries lesions – An in vitro study. Am J Dent, San Antonio. In press.

PERES, P.E.C. Avaliação in situ de uma formulação de dentifício com concentração reduzida de flúor. Piracicaba, 2001. 110 p. Tese (Doutorado em Biologia e Patologia Buco-Dental) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

PETERSON, J.K. A supervised brushing trial as sodium monofluorophosphate dentifrices in a fluoridated area. Caries Res, Basel, v. 13, p. 68-72, 1979.

PETERSSON, H.G.; BRATTHALL, D. The caries decline: a review of reviews. Eur J Oral Sci, Copenhagen, v. 104, p. 436-443, 1996.

- REED, M.W. Clinical evaluation of three concentrations of sodium fluoride in dentifrices. J Am Dent Assoc, Chicago, v. 87, n. 12, p. 1401-1403, Dec. 1973.
- RIPA, L.W. *et al.* Clinical comparison of the caries inhibition of two mixed NaF- $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ dentifrices containing 1000 and 2500 ppm F compared to a conventional $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ dentifrice containing 1000 ppm F: Results after two years. Caries Res, Basel, v. 21, p. 149-157, 1987.
- ROLLA, G.; OGAARD, B. Studies on the solubility on calcium fluoride in human saliva. *In*: LEACH, S.A. Factors relating to demineralization and remineralization of teeth. Oxford : IRL Press, 1986. p. 45-50.
- ROLLA, G.; OGAARD, B.; CRUZ, R.A. Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review. Int Dent J, London, v. 41, n. 3, p. 171-174, 1991.
- ROLLA, G.; SAXEGAARD, E. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. J Dent Res, Washington, v. 69, spec issue, p. 180, 1990.
- SIDI, A.D.; WILSON, R.F. Fluoride, calcium and inorganic phosphorus concentrations in approximal plaque collected from young adults 1 and 24 h after toothbrushing with fluoride toothpastes. Caries Res, Basel, v. 25, p. 330-334, 1991.
- STEPHEN, K.W. Fluoride toothpastes, rinses and tablets. Adv Dent Res, Washington, v. 8, n. 2, p. 185-189, July 1994.
- STEPHEN, K.W. *et al.* A 3-year oral health dose-response study of sodium monofluorophosphate dentifrices with and without zinc citrate: anti-caries results. Community Dent Oral Epidemiol, Copenhagen, v. 16, p. 321-325, 1988.

STOOKEY, G.K. *et al.* A critical review of the relative anticaries efficacy of sodium fluoride and sodium monofluorophosphate dentifrices. Caries Res, Basel, v. 27, n. 4, p. 337-360, 1993.

SULLIVAN, R.J. *et al.* Development of an enhanced anticaries efficacy dual components containing sodium fluoride and dicalcium phosphate dihydrate. Am J Dent, San Antonio, v. 14, Special Issue, May 2001.

SULLIVAN, R.J. *et al.* In vivo detection of calcium from dicalcium phosphate dihydrate dentifrices in demineralized human enamel and plaque. Adv Dent Res, Washington, v. 11, n. 4, p. 380-387, Nov. 1997.

SULLIVAN, R.J. *et al.* Intra-oral comparison and evaluation of the ability of fluoride dentifrices to promote the remineralization of caries-like lesions in dentin and enamel. J Clin Dent, Yardley, v. 6, n. 2, p. 135-138, 1995.

TEN CATE, J.M.; DUIJSTERS, P.P.E. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. Caries Res, Basel, v. 16, p. 201-210, 1982.

TEN CATE, J.M.; DUIJSTERS, P.P.E. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. Caries Res, Basel, v. 17, p. 193-199, 1983.

TEN CATE, J.M. *et al.* Effect of timing of fluoride treatment on enamel de- and remineralization in vitro: a pH-cycling study. Caries Res, Basel, v. 22, p. 20-26, 1988.

VOLPE, A.R. Dentifrices and mouth rinses. *In*: STALLARD, A.; CALDWELL, L. A textbook of preventive dentistry. Philadelphia, Saunders, 1977, p.173-214.

VOLPE, A.R.; PETRONE, M.E.; DAVIES, R.M. A critical review of the 10 clinical pivotal caries clinical studies used in a recent meta-analysis comparing the anticaries efficacy of sodium fluoride and sodium monofluorophosphate dentifrices. Am J Dent, San Antonio, v. 6, Special Issue, p. 13-42, 1993.

WHITE, D.J. Reactivity of Fluoride Dentifrices with Artificial Caries. **Caries Res**, Basel, v. 21, p. 126-140, 1987.

ZHANG, Y.P. *et al*. Intra-oral remineralization of enamel with a MFP/DCPD and MFP/silica dentifrice using surface microhardness. **J Clin Dent**, Yardley, v. 6, n. 2, p. 148-153, 1995.

ZERO, D.T. In situ caries models. **Adv Dent Res**, Washington, v. 9, n. 3, p. 214-230, Nov. 1995.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



CERTIFICADO

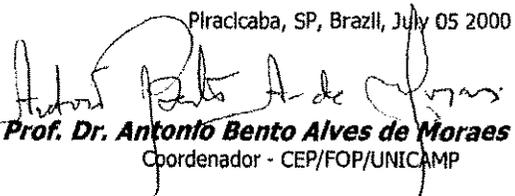
Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "Estudo *In vitro* da eficácia anticárie de uma formulação de dentífrico contendo carbonato de cálcio (CaCO_3) e fluoreto de sódio (NaF)", sob o protocolo nº **75/2000**, do(a) Pesquisador(a) **ROSANE MARIA ORTH**, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Cíntia Pereira Machado Tabchoury**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – FOP.

Piracicaba, 05 de julho de 2000

We certify that the research project with title "*In Vitro* study of the anticaries efficacy of a formulation of dentifrice with calcium carbonate (CaCO_3) and sodium fluoride (NaF)", protocol nº **75/2000**, by Researcher **ROSANE MARIA ORTH**, responsibility by Prof. Dr. **Cíntia Pereira Machado Tabchoury** is in agreement with the Resolution 196/96 from National Committee of Health/Health Department (BR) and was approved by the Ethical Committee in Research at the Piracicaba Dentistry School/UNICAMP (State University of Campinas).

Piracicaba, SP, Brazil, July 05 2000


Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen
Secretário - CEP/FOP/UNICAMP


Prof. Dr. Antonio Bento Alves de Moraes
Coordenador - CEP/FOP/UNICAMP

Dosagem de flúor nos dentifrícios

Tabela 5. Concentração (ppm) de flúor total e flúor iônico nos dentifrícios (média \pm dp; n = 4).

Formulações	Flúor Iônico	Flúor Total
Placebo	13,8 \pm 0,5	45,0 \pm 3,6
275 ppm F	216,8 \pm 21,0	298,2 \pm 13,6
550 ppm F	513,5 \pm 9,4	601,6 \pm 6,7
1100 ppm F	1035,9 \pm 28,5	1145,7 \pm 31,4
Crest [®]	1091,5 \pm 26,6	1031,1 \pm 1,5