

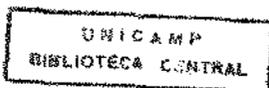
ROSA FERNANDA IGNÁCIO

**“EFEITO DE UM DENTIFRÍCIO FLUORETADO CONTENDO
BICARBONATO DE SÓDIO NA CONTAGEM DE
ESTREPTOCOCOS DO ‘GRUPO MUTANS’,
ACIDOGENICIDADE E COMPOSIÇÃO DA PLACA DENTAL”.**

*Este exemplar foi
devolvido corrigido conforme
resolução CC PG/036/83
Piracicaba, 24 de julho de 1997
Jaimes*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de
Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do título de Mestre em Ciências - Área de
Farmacologia.

PIRACICABA, 1997



ROSA FERNANDA IGNÁCIO

**“EFEITO DE UM DENTIFRÍCIO FLUORETADO CONTENDO
BICARBONATO DE SÓDIO NA CONTAGEM DE
ESTREPTOCOCOS DO ‘GRUPO MUTANS’,
ACIDOGENICIDADE E COMPOSIÇÃO DA PLACA DENTAL”.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Ciências - Área de Farmacologia.

ORIENTADOR : PROF. DR. JAIME A . CURY

PIRACICABA, 1997

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	I/UNICAMP
	1977
V. 0 Ex.	
TOMBO BC/	31379
PROC.	2B1187
C <input type="checkbox"/> D <input checked="" type="checkbox"/>	
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	14/02/97
N.º CPD	

CE-00099702-1

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

15e	<p>Ignácio, Rosa Fernanda.</p> <p>Efeito de um dentífrico fluoretado contendo bicarbonato de sódio na contagem de estreptococos do 'grupo mutans', acidogenicidade e composição da placa dental / Rosa Fernanda Ignácio. - Piracicaba : [s.n.], 1997.</p> <p>109f. : il.</p> <p>Orientador : Jaime Aparecido Cury.</p> <p>Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Placa dentária - Composição. 2. Dentífrico. 3. Flúor. 4. Bicarbonato de sódio. 5. Polissacarídeos. I. Cury, Jaime Aparecido. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p>	<p>19.CDD - 617.601 - 613.488 - 661.42 - 661.323 - 547.782</p>
-----	--	--

Índices para o Catálogo Sistemático

1. Placa dentária -Composição	617.601
2. Dentífrico	613.488
3. Flúor	661.42
4. Bicarbonato de sódio	661.323
5. Polissacarídeos	547.782



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Mestrado**, em sessão pública realizada em 24/06/97, considerou o candidato aprovado.

1. Jaime Aparecido Cury _____

2. Pedro Luiz Rosalen _____

3. Odila Pereira da Silva Rosa _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ruy (*in memoriam*) e
Ronilda.

Ao Manoel, pelo seu amor.

Ao Prof. Dr. Jaime A. Cury, pela
orientação recebida, pelo apoio
fundamental e pelo exemplo de conduta
como pesquisador.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen, , por ter estimulado e apoiado o meu ingresso no mestrado em Farmacologia, por me permitir trabalhar no laboratório de Microbiologia da Área de Farmacologia da FOP-UNICAMP , pela ajuda e orientação recebidas durante a realização dos ensaios de contagem microbiana e, especialmente, pela nossa amizade.

Ao Cirurgião Dentista Paulo Edelvar Corrêa Peres, Pós-Graduando em Biologia e Patologia Buco-Dental da FOP-UNICAMP, pela realização das medições de pH e coleta de placa, pela participação efetiva em diversas etapas deste trabalho, pelo apoio constante e, principalmente, pela amizade.

Aos colegas e professores do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia pelo apoio e colaboração prestados.

Aos voluntários Giovani, Richard, Andréa, Viviane, Edson, Daniela, Cláudia, Jesse, Alfredo, Helena, Gustavo, Eliane, Érica, Adriano, Felipe, Feliciano, Marcos, Luciano, Alessandro, Manoel, Maurício, Carmen e Fábio, sem os quais este trabalho não teria sido realizado.

Aos professores do Departamento de Ciências Farmacêuticas e Análises Clínicas da Universidade Metodista de Piracicaba, em especial, ao Silvio, Leno, Manoel, Luciane, Raquel e Chaud, pelo companheirismo e pela amizade compartilhada.

Aos técnicos Waldomiro Vieira Filho e Mariza de Jesus Carlos Soares, à funcionária Maria Elisa dos Santos e ao guarda mirim Jesse Willians de Souza, pela valiosa colaboração.

Aos órgãos financiadores CNPq e Fundo de Apoio à Pesquisa da UNIMEP, pela Bolsa de Estudos para a realização deste Curso de Pós-Graduação.

À Dra. Machico Yoschioca, da Kolynos do Brasil, pelo preparo das formulações dos dentifrícios.

Às bibliotecárias da Faculdade de Odontologia de Piracicaba pelo auxílio técnico prestado.

À Eliane, Helena e Cíntia, do Laboratório de Bioquímica Oral, por toda ajuda, companheirismo e amizade.

Ao Renato, Rita, Lili, Dalton, Gabriela, Janaína, Beto e Gustavo, pelos quais tudo vale a pena.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES
LISTA DE ABREVIATURAS
RESUMO

1 -	INTRODUÇÃO	01
2 -	REVISTA DA LITERATURA	03
	2.1 Placa Dental	04
	2.2 Estreptococos do Grupo Mutans	07
	2.3 Acidogenicidade da Placa Dental	10
	2.4 Controle Químico da Placa	13
	2.5 Bicarbonato de Sódio	14
3 -	PROPOSIÇÃO	47
4 -	MATERIAL E MÉTODO	48
	4.1 Voluntários	48
	4.2 Dentifícios	48
	4.3 Delineamento Experimental	49
	4.4 Ensaios Realizados	50
	4.5 Coleta de Amostras	50
	4.5.1 saliva	50
	4.5.2 placa bacteriana	50
	4.6 Contagem de Estreptococos do Grupo Mutans	52
	4.6.1 na saliva	52
	4.6.2 na placa bacteriana	53
	4.7 Acidogenicidade <i>In Vivo</i> da Placa	54
	4.8 Dosagens Bioquímicas	55
	4.8.1 dosagem de flúor solúvel ácido.....	57
	4.8.2 dosagem de polissacarídeo solúvel em álcali	57
	4.9 Capacidade Tampão <i>In Vitro</i> dos Dentifícios	58
5 -	RESULTADOS	59
6 -	DISCUSSÃO	73
7 -	CONCLUSÃO	82
8 -	ANEXOS	83
9 -	SUMMARY	95
10 -	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TABELAS :

Tabela 1: Contagem de estreptococos do grupo mutans na saliva	60
Tabela 2: Contagem de estreptococos do grupo mutans na placa dental	62
Tabela 3: pH de placa no T_0	64
Tabela 4: pH de placa no T_5	65
Tabela 5: Δ pH placa ($T_0 - T_5$)	66
Tabela 6: Concentração de polissacarídeo álcali solúvel na placa dental	68
Tabela 7: Concentração de flúor solúvel em ácido na placa dental	70
Tabela 8: pH inicial e capacidade tampão <i>in vitro</i> dos dentifrícios (suspensão) ..	72
Tabela 9: pH inicial e capacidade tampão <i>in vitro</i> dos dentifrícios (sob.)	72

GRÁFICOS :

Gráfico 1: Contagem de estreptococos do grupo mutans na saliva	60
Gráfico 2: Contagem de estreptococos do grupo mutans na placa dental	62
Gráfico 3: pH de placa no T_0	64
Gráfico 4: pH de placa no T_5	65
Gráfico 5: Δ pH placa ($T_0 - T_5$)	66
Gráfico 6: Concentração de polissacarídeo álcali solúvel na placa dental	68
Gráfico 7: Concentração de flúor solúvel em ácido na placa dental	70

FIGURAS:

Figura 1: UFC de estreptococos do grupo mutans	53
Figura 2: Medição do pH de placa interproximal	54
Figura 3 : Fluxograma de extração dos constituintes da placa	56

LISTA DE ABREVIATURAS

ppm	partes por milhão
ppm F ⁻	partes por milhão de Fluoreto
NaHCO ₃	bicarbonato de sódio
CaCO ₃	carbonato de cálcio
G	grupo
Cruz.	cruzamento
set.	setembro
out.	outubro
nov.	novembro
dez.	dezembro
Volunt.	voluntário
CARB/BICAR	dentifrício contendo carbonato de cálcio + 14% bicarbonato de sódio
CARBONATO	dentifrício contendo carbonato de cálcio como abrasivo
SÍLICA	dentifrício contendo sílica como abrasivo
PBS	phosphate buffer saline (tampão fosfato adicionado de NaCl)*
PCO ₂	pressão parcial de CO ₂
CO ₂	dióxido de carbono
UFC	unidade formadora de colônia
T ₀	tempo zero
T ₅	tempo cinco minutos
HCl	ácido clorídrico
M	molar
NaOH	hidróxido de sódio

T.A	temperatura ambiente
sol.	solúvel
ppt.	precipitado
sob.	sobrenadante
F ⁻	ión flúor, fluoreto
mV	milivolts
H ₂ SO ₄	ácido sulfúrico
nm	nanômetros
EM	estreptococos do grupo mutans
EMS	estreptococos do grupo mutans na saliva
EMP	estreptococos do grupo mutans na placa
PSA	polissacarídeos solúvel em álcali
FSA	flúor solúvel em ácido
MSB	meio Mitis Salivarius Bacitracina*
mod.	modelo
apud	em
et al.	e outros (abrev. de “et alii”)
TISAB	Total Ionic Strenght Adjustive Buffer (tampão de ajuste de força iônica)*

* composição no Anexo IV.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de um dentífrico contendo bicarbonato de sódio na contagem de estreptococos do grupo mutans, acidogenicidade e composição da placa dental. Vinte e três voluntários escovaram os dentes 3 vezes ao dia, tendo sido testadas três formulações de dentífricos fluoretados (1500 ppm F), contendo ou bicarbonato de sódio (14%) mais carbonato de cálcio (CARB/BICAR), ou carbonato de cálcio (CARBONATO) ou sílica (SÍLICA), num delineamento experimental do tipo duplo cego cruzado, em que cada cruzamento teve a duração de 30 dias, com um intervalo de 7 dias entre cada etapa, no qual foi utilizado o dentífrico SÍLICA. No 28º dia, 08 a 10 horas após a última escovação, foi realizada a contagem de estreptococos do grupo mutans na saliva (EMS). No 30º dia, após 48 horas nas quais os voluntários bochecharam 3 vezes ao dia uma suspensão de dentífrico/água, e 6 vezes ao dia sacarose a 10%, analisou-se na placa dental, após 10 a 12 horas do último bochecho de dentífrico : a) contagem de mutans (EMP); b) polissacarídeos alcali solúveis (PSA); c) flúor solúvel em ácido (FSA); d) pH no tempo zero (T_0), após 5 min. de bochecho com sacarose (T_5), calculando-se o Δ pH ($T_0 - T_5$). Os resultados (média \pm erro padrão) com relação aos tratamentos com os dentífricos SÍLICA, CARBONATO e CARB/BICAR foram respectivamente : 1) EMS ($\times 10^6$ UFC/mL saliva) = 11,43 \pm 7,62 A; 2,33 \pm 1,04 A; 2,07 \pm 1,10 A; 2) EMP ($\times 10^6$ UFC/mg placa) = 0,099 \pm 0,095 A; 0,027 \pm 0,018 A; 0,007 \pm 0,003 A; 3) PSA (μ g/mg placa) = 6,89 \pm 0,62 AC; 8,46 \pm 0,80 AB; 6,11 \pm 0,59 C; 4) FSA (μ g/g placa) = 36,67 \pm 10,10 A; 48,12 \pm 19,23 A; 52,21 \pm 15,12 A; 5) T_0 = 6,72 \pm 0,12 A; 6,88 \pm 0,13 A; 6,65 \pm 0,11 A; 6) T_5 = 5,61 \pm 0,13 A; 5,71 \pm 0,13 A; 5,70 \pm 0,12 A; 7) Δ pH = 1,12 \pm 0,11 A; 1,17 \pm 0,11 A; 0,95 \pm 0,10 A, sendo que médias seguidas por letras distintas, diferem entre si ao nível de 5% de

significância. Os resultados encontrados demonstram que embora o dentifrício contendo bicarbonato de sódio tenha apresentado, coletivamente, uma tendência a influenciar positivamente nos diversos fatores relacionados à cárie dental, não diferiu significativamente dos dentifrícios contendo carbonato de cálcio ou sílica como abrasivo.

Palavras-chave: dentifrício, bicarbonato de sódio, placa dental, estreptococos mutans, acidogenicidade, flúor, polissacarídeos insolúveis.

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença de origem bacteriana que reflete o resultado de um processo dinâmico que ocorre em função de eventos bioquímicos gerados pelos microrganismos da placa, após exposição a carboidratos fermentáveis. A produção de ácidos e a conseqüente queda de pH promove um distúrbio físico-químico entre o esmalte dental e o fluído da placa circundante, com perda de mineral e eventual cavitação (GUEDES, 1995).

A crescente compreensão nas últimas décadas da ecologia da microbiota bucal e, em particular, o reconhecimento e identificação dos microrganismos associados a cárie dental, tornou a perspectiva da quimioterapia mais promissora do que nunca, não obstante à limitação de alguns dos agentes propostos e o método de aplicação utilizado (CAUFIELD & NAVIA, 1984).

O controle das doenças placa dependentes pode ser alcançado pela inibição da implantação, colonização e atividade metabólica da placa bacteriana, e/ou pelo aumento da defesas dos tecidos bucais e da resistência. O agente selecionado e os métodos de aplicação deverão ser suficientes e versáteis para que possam ser eficazes contra a maioria das espécies de bactérias cariogênicas, além de suficientemente seletivos a fim de não perturbarem o delicado e benéfico equilíbrio existente entre a microbiota bucal e o hospedeiro humano (CAUFIELD & NAVIA, 1984).

Várias categorias de agentes químicos têm sido utilizados para reduzir o crescimento e proliferação da placa bacteriana como sais de amônio quaternário (cloreto de cetilpiridíneo), bis biguanidas (clorexidina) e alcalóides derivados de plantas

(sanguinarina), compostos orgânicos catiônicos; compostos metálicos (fluoreto estanhoso e citrato de zinco); fenólicos não carregados (triclosan, óleos essenciais de listerina); enzimas oxidativas (amido glicosidase e glicose oxidase); peróxidos (peróxido de hidrogênio, peróxido difosfato) e agentes modificadores de superfície como o delmopinol (CUMMINS & CREETH, 1992).

Por outro lado, o controle da formação e desenvolvimento da microbiota cariogênica poderia ser atingido interferindo-se com seu fator de virulência (MARSH 1992), que são os ácidos produzidos durante a fermentação de açúcares. Deste modo, substâncias alcalinizantes como o bicarbonato de sódio (DAWES 1996, BANOCZY 1997) e o próprio carbonato de cálcio (DUKE 1986, TAHMASSEBI *et al.* 1994) usado como abrasivo em formulações de dentífrícios, poderiam neutralizar os ácidos produzidos, não só fornecendo um meio não propício para a predominância das bactérias cariogênicas acidúricas, como também evitando a desmineralização do esmalte.

Assim, o bicarbonato de sódio tem sido utilizado em dentífrícios (EMLING & YANKELL 1988, YANKELL & EMLING 1988, MURAI *et al.* 1988, HOLZER 1988, TANZER *et al.* 1990a, TERZOGLOU & CLARKSON 1991, TANZER *et al.* 1993, DENTINO *et al.* 1993, HEILMAN & WEFEL 1994, BEST *et al.* 1994, KASHKET *et al.* 1994, SEGRETO *et al.* 1995b, SAGEL & WHITE 1997); entretanto, até o momento, poucos estudos demonstraram sinergismo de efeito com o flúor, em termos de redução de cárie (TANZER *et al.* 1990a).

Uma vez que o mecanismo pelo qual o bicarbonato poderia agir é ainda discutido, o objetivo do presente trabalho foi colaborar na elucidação do assunto.

2. REVISTA DA LITERATURA

A cárie dental é uma moléstia infecciosa de origem bacteriana, e é influenciada no seu desenvolvimento pela interação entre agente etiológico, dieta e fatores relacionados ao hospedeiro. A lesão de cárie propriamente dita, ou cavidade, é o resultado de um processo de desequilíbrio entre os fatores de proteção do dente, que resulta na perda do mineral. Essa perda ocorre quando o pH na placa dental atinge um ponto crítico, em torno de 5,5, sendo que a produção de ácido é decorrente da fermentação bacteriana dos açúcares ingeridos pela dieta (LEGLER & MENAKER, 1980).

Do ponto de vista do **hospedeiro**, deve-se considerar os fatores genéticos e ambientais, como a estrutura do dente, a quantidade e qualidade da saliva, a resposta imunológica, idade, condições endócrinas e o comportamento e atitudes do hospedeiro (FEJERSKOV & THYLSTRUP, 1995).

A análise do fator **dieta** deve considerar a frequência e a quantidade de sacarose ingerida, que por sua vez está relacionada ao nível sócio-econômico e cultural do indivíduo (FEJERSKOV & THYLSTRUP, 1995).

Segundo a revisão de HAMADA & SLADE 1980, o estudo de Vipeholm forneceu fortes evidências no sentido de haver uma relação entre frequência de ingestão de sacarose e prevalência de cáries em humanos. Recentes estudos em ratos revelaram que uma dieta com 0,1% de sacarose pode promover o desenvolvimento de cárie dental. Dentre os carboidratos ingeridos na dieta, a sacarose tem estado diretamente relacionada à cárie dental.

Quanto ao **fator etiológico**, observações clínicas em humanos e animais indicam que a formação da placa é um requisito essencial para o desenvolvimento da cárie dental e da doença periodontal (**HAMADA & SLADE, 1980**).

2.1 A PLACA DENTAL

A placa dental é constituída por microrganismos envolvidos em uma matriz de polímeros de origem bacteriana e salivar. Pode se considerar que ela é a forma pela qual os microrganismos encontram condições para aderirem, se desenvolverem e sobreviverem sobre a estrutura do dente (**MARSH,1992**).

Ainda que a placa dental se forme naturalmente nos dentes, constituindo-se parte das defesas da boca por atuar como uma barreira contra a colonização por microrganismos exógenos, em situações susceptíveis e na ausência de uma higiene oral adequada, pode acumular-se, determinando o aparecimento da cárie dental ou da doença periodontal (**MARSH, 1992**).

Os dentes oferecem condições ideais para a colonização e desenvolvimento microbiano, pois são constituídos por superfícies não constantemente renovadas e, em alguns locais, propícias ao acúmulo bacteriano. Todavia, a colonização microbiana não é um processo passivo, requerendo que a bactéria se adira à superfície (**NYVAD & FEJERSKOV, 1995**). Tão logo seja formada, as bactérias interagem com a película adquirida através de interações moleculares específicas, que se dão entre adesinas da superfície celular bacteriana e receptores da película. Por mecanismos de co-agregação, bactérias subseqüentes da mesma ou

de diferentes espécies são capazes de aderir às bactérias que se fixaram inicialmente (MARSH,1992).

Estudos experimentais de desenvolvimento de placa têm mostrado que os colonizadores iniciais são os estreptococos, particularmente *S.sanguis*, *S.oralis* e *S.mitis*; *Actinomyces ssp.*, hemófilos e *Neisseria ssp.* são também encontrados na fase inicial de desenvolvimento da placa (MARSH, 1992).

SCHEIE 1994, em um trabalho de revisão sobre os mecanismos de aderência microbiana à superfície dos dentes, considerou a capacidade específica de adesão dos estreptococos mais importante que o alto nível destes microrganismos na saliva para explicar sua presença majoritária na placa de estágio inicial. O fato de *S.salivarius* estar presente em grandes quantidades na saliva, mas ser de importância mínima na constituição inicial da placa corrobora tal afirmação.

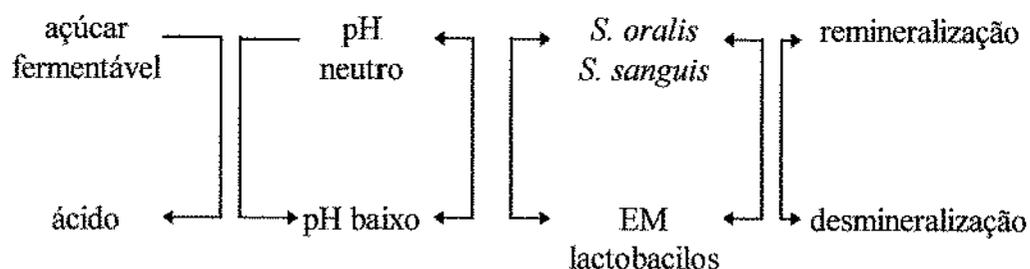
Uma vez desenvolvida, a composição microbiana da placa é relativamente estável, ocorrendo variações entre diferentes sítios da cavidade oral. As fissuras são colonizadas predominantemente por estreptococos, enquanto estreptococos e actinomicés são mais numerosos no sítios proximais (MARSH, 1992).

Estudos realizados com a finalidade de estabelecer a relação entre o número de bactérias presentes na saliva e a sua capacidade de colonizar placas de diferentes sítios da cavidade oral, mostraram que para *S. mutans*, esse limiar é de $4,5 \times 10^4$ UFC/mL saliva para superfícies lisas e de $3,0 \times 10^4$ UFC/mL saliva para fissuras artificiais. O limiar para *S. sanguis* colonizar superfície lisa é de 1×10^3 UFC/ mL saliva. Áreas retentivas do dente podem não

estar sujeitas ao fenômeno de aderência seletiva, refletindo mais uma retenção passiva de microrganismos salivares. Uma vez colonizado em regiões de fissura, a natureza acidúrica desse microrganismo pode favorecer sua seleção para tal (LOESCHE, 1993a).

Segundo MARSH 1994, diversos estudos têm sido realizados para elucidar os fenômenos que determinam a alteração da microbiota comensal para uma relação patogênica com o hospedeiro. Os resultados mostram que a resistência a baixos valores de pH, produzidos por ingestão freqüente de sacarose, pareceu ser mais importante que a capacidade de metabolização de açúcares, como fator determinante na alteração da microbiota de comensal para potencialmente cariogênica. A comunidade microbiana foi alterada irreversivelmente somente quando o pH caiu abaixo de 5,0 e as espécies microbianas predominantes foram *Streptococcus mutans* (EM) e *Lactobacillus casei*. A capacidade acidúrica desses microrganismos permitiu que eles competissem com sucesso a baixos níveis de pH. O autor propôs a “hipótese da placa ecológica” (Diagrama 1) para explicar os eventos que determinam o aparecimento da cárie dental, em contraposição ou na tentativa de harmonizar os conceitos anteriores de placa inespecífica de THEILADE 1986 e o de placa específica de LOESCHE 1976 :

Diagrama 1 : Hipótese de Formação da Placa Cariogênica



A hipótese propõe que uma mudança no fator ambiental (pH baixo), funciona como disparador do gatilho da mudança no balanço da microbiota residente da placa, predispondo o sítio à doença. Em indivíduos com uma dieta convencional de baixo teor de açúcar e conseqüente baixa produção de ácido, a microbiota permaneceria estável, mantendo em equilíbrio o processo desmineralização-remineralização.

2.2 ESTREPTOCOCOS DO GRUPO MUTANS (EM)

HAMADA & SLADE 1980, descreveram uma abrangente revisão sobre os estreptococos do grupo mutans e seu papel na cárie dental. As evidências que relacionaram esses microrganismos ao desenvolvimento da cárie foram fornecidas primeiramente por **ORLAND 1959**, tendo sido demonstrado que espécies selecionadas de estreptococos, nomeadas enterococos, produziam cárie experimental em ratos “germ-free”, quando alimentados com uma dieta contendo sacarose. **Mc CLURE e HEWITT**, em 1946 já tinham evidências que antibióticos suprimiam cáries em roedores, sugerindo o envolvimento de bactérias sensíveis à penicilina na cárie dental. **FITZGERALD e KEYES 1960** demonstraram que algumas espécies selecionadas de estreptococos eram capazes de causar uma infecção

transmissível em roedores. Diversas dessas espécies de estreptococos têm sido isoladas em humanos, sendo que as propriedades características desses estreptococos foram identificadas por CARLSSON 1967, como sendo as mesmas descritas por CLARKE 1924 para o *Streptococcus mutans*.

Segundo LOESCHE 1986, os estreptococos do grupo mutans são aqueles encontrados na placa, os quais fermentam manitol e sorbitol, produzem glucanos extracelulares a partir de glucose e, com exceção do *S.ferus*, são cariogênicos em modelos animais. Oito sorotipos podem ser reconhecidos com base em antígenos de carboidratos e estudos de DNA têm mostrado a existência de quatro grupos genéticos, que foram elevados a espécie : *S.mutans* (sorotipos c/e/f), *S.sobrinus* (sorotipos d/g), *S.rattus* (sorotipo b) e *S.cricetus* (sorotipo a), sendo que *S.mutans* e *S.sobrinus* juntos representam quase 100% dos estreptococos do grupo mutans isolados em humanos. Estudos clínicos indicaram que somente *S.mutans* e, em menor extensão *S.sobrinus* e *L.casei*, das 200 a 300 espécies que podem ser isoladas da placa, podem ser consistentemente associadas à cárie dental.

S. mutans sintetiza polissacarídeos, denominados glucanos e frutanos, através da atividade de enzimas bacterianas conhecidas como glucosiltransferases e frutosiltransferases sobre a sacarose. Os glucanos são especialmente considerados como fator crítico importante na formação da placa dental e conseqüentemente na patologia da cárie, porque promovem adesão entre superfícies bacterianas (LOESCHE, 1993b).

Das duas frações de glucanos sintetizadas por estreptococos do grupo mutans, apenas uma revelou ser insolúvel em água. Devido suas propriedades físico-químicas, os

glucanos insolúveis têm sido considerados como a “peça de resistência” da matriz da placa. O *Streptococcus mutans* tem sua adesão interbacteriana mediada por glucanos insolúveis. Os polissacarídeos insolúveis são extraídos laboratorialmente por álcalis fortes. Os glucanos insolúveis apresentam predominância de ligações α (1 \rightarrow 3), sendo denominados mutanos; os glucanos solúveis são predominantes em ligações α (1 \rightarrow 6), sendo conhecidos por dextranos (CARLSSON & HAMILTON 1995, GUGGENHEIM 1970).

Resultados de pesquisas recentes têm implicado os polissacarídeos extracelulares como responsáveis em tornar a placa bacteriana mais porosa, facilitando a difusão de ácidos e açúcares (CARLSSON & HAMILTON 1995, CURY *et al.*).

Segundo BRATTHALL & ERICSON 1995, diversos estudos foram realizados com o propósito de correlacionar a prevalência de estreptococos do grupo mutans com o aparecimento de lesões cariosas, tendo sido verificado que indivíduos com alto índice de colonização por esses microrganismos (10^6 UFC/mL saliva) tiveram muito mais lesões cariosas que indivíduos sem nenhum ou com baixos níveis. Foram citados os estudos de ZICKERT *et al.* 1982 e de ALALUUSUA *et al.* 1990.

NEWBRUN 1988, também correlaciona contagens quantitativas de *S. mutans* com incremento de cáries, mencionando sua utilidade na seleção de agentes com potencial terapêutico.

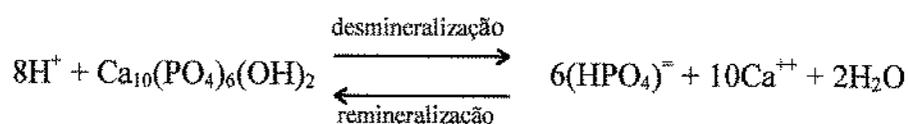
Tendo sido comprovado a relação entre *S. mutans* e cárie, medidas antimicrobianas contra *S. mutans* podem reduzir consideravelmente a incidência de cárie dentária (KRASSE, 1986).

2.3 ACIDOGENICIDADE DA PLACA DENTAL

Muitos fatores podem influenciar na capacidade de agressão dos ácidos formados por uma microbiota tão complexa quanto a da placa dental; a acidez do ambiente do dente é influenciada não apenas pelo número e espécies de bactérias presentes, mas também pela capacidade tampão da saliva e do fluido da placa, pelo índice de fluxo e viscosidade da saliva, pelas características de difusão da placa, pela presença de fluoreto no esmalte e na placa, pelo tipo de dieta alimentar ingerida e pela frequência de ingestão de açúcar (CARLSSON & HAMILTON, 1995).

Os ácidos formados na placa, principalmente o ácido lático, se dissipam conforme um gradiente de concentração, ou seja, se o pH da placa for menor que o do filme salivar, ocorrerá “migração” do ácido para a película. Grande parte dos ácidos ficarão na forma de prótons dependendo do gradiente de concentração do pH na placa e do valor do pKa do ácido. Quando o ácido entra na película salivar com valor de pH mais alto, ele liberará seus íons de hidrogênio, estabelecendo-se aí um novo equilíbrio. O pH do filme salivar vai depender do tipo e da quantidade do ácido, da capacidade tampão da saliva e da reologia da película (TENOVUO & LAGERLÖF, 1995).

Em condições fisiológicas a reação a seguir, que representa o fenômeno de desmineralização-rem mineralização (des-re), está favorecida para a formação mineral e remineralização do esmalte, uma vez que a saliva e a fase fluída da placa estão supersaturadas da maioria dos sais básicos de fosfato e cálcio.



Entretanto, se a fermentação de carboidratos produzir ácido suficiente, esse efeito poderá ser sobrepujado, já que os íons hidrogênio deslocam os íons de cálcio e fosfato da porção mineral, solubilizando a hidroxiapatita (LOESCHE, 1993c).

A persistente queda de pH após a exposição a açúcares fermentáveis da dieta pode ser devida à atividade metabólica de um maior número de bactérias na superfície dos dentes ou ao aumento da presença de *S. mutans* ou *S. sobrinus*, eficientes fermentadores de carboidratos na placa (LOESCHE, 1986).

Os diversos métodos utilizados para medir pH de placa (telemétrico e de contato ou de superfície), confirmam a chamada curva de Stephan; isto é, quando a placa é exposta à sacarose durante um a dois minutos, o pH rapidamente diminui nos minutos subsequentes, sendo que em 30-60 minutos ocorre o retorno ao pH inicial. O pH de placa em repouso (placa após jejum de ao menos 2 horas ou jejum noturno), apresenta valores médios entre 5,6-7,0, sendo 6,5 o valor predominante. A elevação do pH é tanto resultado da difusão dos ácidos para fora da placa, quanto do efeito tamponante dos íons presentes na placa e na película salivar (NYVAD & FEJERSKOV, 1995).

O pH no qual a desmineralização inicia é conhecido como pH crítico e está entre 5,0-5,5. Na verdade, a perda mineral que ocorre neste pH funciona como efeito tampão. Durante o platô ácido da curva de Stephan o mineral do dente dissolve para tamponar quedas

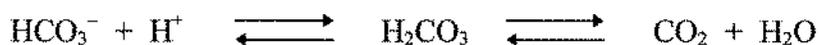
posteriores de pH, mas este nível de perda é revertido quando o pH retorna ao normal. Se a queda ocorrer em níveis de pH abaixo de 4,0, a perda é irreversível. A desmineralização e a conseqüente cavitação do dente ocorrem se a freqüência e a magnitude da produção ácida sobrepujam o processo de reparo (LOESCHE, 1986).

O efeito protetor da saliva parece ser marcante contra a cárie, o que pode ser evidenciado na xerostomia quando aparecem cáries rampantes devido ao baixo fluxo salivar. Este efeito protetor está associado com a velocidade do filme salivar, isto é, à capacidade da saliva de diluir a sacarose da dieta na placa das diversas faces dentais. Além dos efeitos antimicrobianos, da concentração supersaturante de cálcio e fosfato, da presença de compostos que elevam o pH (sialina, arginina e uréia), a saliva possui um efeito tamponante (LOESCHE 1986, LAGERLÖF & OLIVEBY 1994).

O pH da saliva secretada é dependente dos ácidos e bases secretados, mais notadamente do íon bicarbonato. O pH pode variar de 5,6 para saliva não estimulada a 7,8 numa situação de fluxo muito elevado. O sistema bicarbonato é mais importante que o sistema fosfato, uma vez que este tem baixas concentrações na saliva; sua importância é maior na saliva não estimulada (TENOVUO & LAGERLÖF, 1995).

A concentração do íon bicarbonato no plasma é de cerca de 24 mM, mas na saliva não estimulada é de apenas aproximadamente 1 mM, o que indica reabsorção deste íon. No fluxo salivar aumentado, a concentração de bicarbonato na saliva tenderá a se aproximar da concentração plasmática, pois a reabsorção está diminuída (TENOVUO & LAGERLÖF, 1995).

O bicarbonato aceita íons de hidrogênio para formar o ácido carbônico segundo a reação:



Uma vez que a PCO_2 na saliva é o dobro da atmosférica, o CO_2 formado será perdido, deslocando a reação e possibilitando que mais bicarbonatos se liguem a íons de hidrogênio (TENOVUO & LAGERLÖF, 1995).

Várias investigações (ERICSSON 1959, ONOZAWA et al. 1990, RAVALD e BIRKHED 1991, RUSSELL et al. 1990 e 1991, apud LAGERLÖF & OLIVEBY 1994) têm mostrado uma correlação negativa entre tamponamento e diferentes aspectos da cárie dental. Entretanto, os eventos decisivos do ataque à cárie ocorrem na placa dental e abaixo da superfície do esmalte. Nestes locais, os mecanismos de tamponamento podem se comportar diferentemente da saliva.

2.4 CONTROLE QUÍMICO DA PLACA

Embora a placa dental se forme naturalmente no dente, na ausência de uma higiene oral adequada, ela pode acumular além dos níveis que são compatíveis com a saúde bucal, e em locais susceptíveis, a carie dental ou doença periodontal pode ocorrer, dependendo, respectivamente, da presença ou não de açúcar. Em muitos indivíduos, a higiene oral com escovação pode, por si só, não ser suficiente a longo prazo para promover um nível de controle de placa consistente com a saúde bucal (MARSH, 1992).

A atividade antiplaca pode ser alcançada de várias formas. Estas incluem a redução da adesão da bactéria à superfície do dente, inibição do crescimento e proliferação de microrganismos na superfície do dente, inibição da formação da matriz intercelular da placa, modificação da atividade bioquímica da placa para reduzir a formação de produtos citotóxicos e modificação da ecologia da placa para uma microbiota menos patogênica (CUMMINS & CREETH 1992, MANDEL 1988, MARSH 1992).

Um requisito geral para a atividade biológica de um agente é a biodisponibilidade, ou seja, a liberação do agente no local de ação numa forma biologicamente ativa e em doses eficazes. A persistência do efeito é função direta da capacidade de retenção obtida pela adsorção ou ligação no local de ação, sem que a atividade biológica seja perdida. A substantividade depende do grau de ligação às superfícies orais e de liberação dos locais de ligação (SCHEIE, 1995).

Diversos agentes têm sido implicados no controle químico da placa, e recentemente dentifrícios contendo bicarbonato de sódio têm merecido atenção, em função de sua suposta capacidade de tornar o ambiente da cavidade bucal desfavorável ao desenvolvimento de uma microbiota cariogênica.

2.5 BICARBONATO DE SÓDIO

Em 1967, TORELL em estudo clínico realizado no período de dois anos, avaliou o progresso da lesão de cárie em 200 crianças que utilizaram diversas formulações de dentifrícios, dentre elas, um dentifrício a base de NaHCO_3 e outro com NaHCO_3 e NaF . A

progressão foi avaliada clinicamente e radiograficamente e ambos os dentifícios apresentaram a mesma redução do progresso de cárie.

Em estudo realizado em ratos, **LUOMA *et al.* 1968** observaram que dietas cariogênicas adicionadas de bicarbonato e fosfato, em concentrações que variavam de 8 a 10 M para NaHCO_3 e 1,0 M para $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e para KH_2PO_4 , foram capazes de reduzir cárie em 30 (32 a 81 %) e 90 dias (17 a 44%), quando comparados ao controle. A combinação mais efetiva foi NaHCO_3 mais KH_2PO_4 . Houve aumento da formação de cálculo dental, calcificação e necrose tubular renal.

Em 1971, **LUOMA *et al.*** realizaram um estudo clínico para avaliar se a adição de NaHCO_3 mais KH_2PO_4 a tabletes contendo sacarose, poderia interferir no pH da placa dental. Os voluntários ingeriram os tabletes e o pH foi medido antes, durante e depois da ingestão, na placa diluída em água. Os resultados mostraram que a queda do pH durante a ingestão do açúcar foi compensada pelo uso da combinação $\text{NaHCO}_3 / \text{KH}_2\text{PO}_4$ (na razão 9,8/1 M).

Em estudo similar, realizado em ratos, **LUOMA *et al.* 1972** observaram que a adição de fluoreto de sódio (15 ppm F) à dieta com sacarose, reduziu a cavitação de fissuras dos molares inferiores em 67% e de cáries proximais envolvendo dentina em 51%. Quando a sacarose foi adicionada de mais 4% de uma combinação NaHCO_3 mais KH_2PO_4 (9,8/1 M), as reduções foram de 85% na cárie de fissura e 87% na dentina proximal.

Em 1977, **TURTOLA** conduziu um estudo para investigar a possível acumulação de fluoreto na placa dental, quando fluoreto adicional era administrado

concomitantemente ao consumo de açúcar adicionado de bicarbonato - fosfato de potássio. Voluntários ingeriram tabletes contendo sacarose, sacarose mais NaF (10 ou 25 ppm F) e sacarose/ NaF mais NaHCO_3 / KH_2PO_4 (razão molar 9,8/1) por 3 dias. A dose diária de fluoreto foi de 0,5 mg de flúor total e 0,2 mg de flúor ionizado. O fluoreto ingerido não afetou significativamente o conteúdo de flúor total ou ionizado na placa dental, quando comparado ao tablete contendo apenas sacarose. Durante o consumo dos tabletes, o conteúdo de flúor total da placa aumentou temporariamente, havendo depois uma queda e retorno ao valor inicial. No caso dos tabletes com sacarose ou sacarose adicionada de NaF mais NaHCO_3 / KH_2PO_4 , o aumento durante o consumo foi estatisticamente significante. A queda na concentração de F total ocorrida após o consumo, foi significante apenas para sacarose adicionada de NaF mais NaHCO_3 / KH_2PO_4 . Durante o consumo dos tabletes com sacarose /NaF e sacarose/NaF/ NaHCO_3 / KH_2PO_4 , o conteúdo de flúor ionizado na placa caiu significativamente. O autor concluiu que a ligação do flúor livre ocorre em conjunto com a fermentação.

Com o propósito de avaliar o efeito terapêutico de um dentífrico experimental, **GOLDBERG & ENSLEIN 1979** testaram clinicamente uma pasta a base de NaHCO_3 , comparado a um dentífrico comercial disponível. Não foram registradas reações alérgicas para qualquer dos dentífricos. O índice gengival foi reduzido em ambos os grupos, havendo uma redução similar no índice de placa. Os resultados sugeriram que o dentífrico experimental não ofereceu vantagem terapêutica significante.

WINER & TSAMTSOURIS 1979, avaliaram clinicamente um dentífrico experimental de NaHCO_3 , comparado a um dentífrico controle. Os resultados sugeriram não

haver diferença na melhoria do índice gengival e de placa entre o dentífrico experimental e o controle.

POLLOCK et al. 1981, estudaram *in vitro* o processo de lise celular do *Streptococcus mutans* BHT, usando lisosima de ovo, na presença de sais sódicos inorgânicos, medida pela quantificação de DNA liberado. A lise aumentou com o aumento da concentração do íon, até que um nível de platô foi atingido. O processo de lise foi dependente da natureza do ânion e, pela ordem, os mais efetivos foram SCN^- , HCO_3^- , Cl^- , Br^- , NO_3^- e F^- . Os íons tiocianato e bicarbonato foram mais efetivos que Cl^- e F^- em todas as concentrações molares testadas. Os resultados sugeriram que as concentrações fisiológicas dos vários ânions na saliva poderiam ser suficientes para promover a lise dos microrganismos orais pela lisosima.

Em estudo similar, realizado com *Veillonella alcalescens*, **TORTOSA et al. 1981** demonstraram que a lise celular mediada pela lisosima e medida através da liberação de DNA ou RNA marcados radioativamente, é dependente da concentração dos íons presentes e da concentração da própria enzima. O íon bicarbonato foi o mais efetivo na promoção da bacteriolise.

Em **1982 WOLFF et al.**, avaliaram clinicamente o efeito de duas formulações de dentífricos, uma convencional (Sensodyne®) e a outra com bicarbonato de sódio / peróxido de hidrogênio, sobre a doença periodontal. Parâmetros microbiológicos (motilidade das bactérias subgengivais) e clínicos (profundidade da bolsa periodontal, índice de placa, índice de sangramento gengival) foram determinados após a aplicação tópica das formulações, seguida de escovação. Os resultados mostraram que em comparação ao tratamento

convencional, o tratamento com $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ teve uma tendência maior a melhorar os aspectos clínicos ou microbiológicos da doença periodontal, embora não estatisticamente significativa. A metodologia utilizada não possibilitou diferenciar a ação do NaHCO_3 do H_2O_2 .

Em um estudo realizado em ratos previamente inoculados com *Streptococcus mutans* OMZ 176 e *Actinomyces viscosus* Ny-1, recebendo dieta cariogênica, **FIRESTONE et. al 1982** testaram o efeito de soluções a 10%, aplicadas topicamente, na redução do acúmulo de placa e do índice de cárie. A capacidade tampão das soluções foi determinada *in vitro*. As soluções testadas foram peróxido, uréia, uréia peróxido, pentacarbonato de sódio e bicarbonato de sódio. Uréia peróxido e peróxido foram ambos os mais efetivos na redução do acúmulo de placa e da incidência de cárie, quando comparados ao controle. Uréia e bicarbonato de sódio foram ineficazes na redução de placa ou cárie, ainda que o bicarbonato de sódio tenha sido um efetivo tampão *in vitro*. Os autores sugeriram que a ineficácia do bicarbonato poderia ser devida, em parte, à alta frequência de ingestão de sacarose e ao efeito temporário do bicarbonato no pH da placa dental, sendo que no homem, a auto aplicação de um agente tampão de forma adequada, após cada desafio cariogênico, poderia ser mais efetivo na redução da incidência de cárie.

Os efeitos de uma pasta contendo bicarbonato de sódio/peróxido de hidrogênio sobre a profundidade, morfologia e motilidade das bactérias da bolsa periodontal, foram estudados por **CERRA & KILLOY 1982**, em pacientes selecionados. O dentífrico com 3% de NaHCO_3 , adicionado de H_2O_2 , foi aplicado topicamente, tendo como controle uma pasta fluoretada. Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre o tratamento e o controle,

embora a profundidade de sondagem da bolsa tenha sido reduzida em ambos os grupos, provavelmente devido a uma melhora das condições de higiene oral.

POLLOCK *et al.* 1983, estudaram a lise celular de *Streptococcus mutans* por lisosima e lisosima protease, em diferentes faixas de pH e de concentração de ânions inorgânicos. Timina radioativa foi usada para monitorar a liberação de DNA em um meio sintético contendo o microrganismo. Em pH neutro, a lise celular foi dependente da natureza e da concentração do ânion adicionado. A pH ácido NaHCO_3 , mas não NaSCN , NaCl ou NaF , foi efetivo na lise celular. Em concentrações sub-líticas de NaHCO_3 a lise celular foi alcançada pela adição de concentrações apropriadas de um dos demais sais. Os resultados sugeriram que os vários ânions presentes nos fluidos orais, podem juntos ser suficientes para acionar o gatilho da lise dos microrganismos orais.

ROSLING *et al.* 1983, estudaram os efeitos clínicos e microbiológicos na doença periodontal, de um tratamento tópico, aplicado subgengivalmente, de uma mistura de peróxido de hidrogênio - cloreto de sódio e NaHCO_3 mais irrigação com 1% de Betadine®, quando comparado a um dentífrico fluoretado padrão. Os resultados indicaram que a aplicação subgengival, pessoal e profissional, de uma mistura de H_2O_2 - NaCl e NaHCO_3 pode significativamente aumentar os efeitos clínicos e microbiológicos da raspagem e alisamento radicular periodontais, sugerindo que estes agentes, e o modo tópico de terapia antimicrobiana poderiam ser promissores no controle da doença periodontal humana. A metodologia utilizada não permitiu diferenciar a ação isolada do NaHCO_3 .

WEST & KING 1983, conduziram um estudo clínico para avaliar o efeito do uso de uma pasta de $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, associada ou não com o uso de antibióticos, sobre a bolsa periodontal. Microscopia em campo escuro para espiroquetas e bastonetes móveis foi realizada para o grupo tratado e controle (pasta com carbonato de cálcio). O número de sítios supurados e a contagem microbiana em campo escuro não foram diferentes para a escovação com o dentífrico teste comparado ao controle (ambos reduziram em 1/3 o número de sítios supurados). A adição de antibióticos sistêmicos resultou na eliminação quase que total da supuração e das espiroquetas, não havendo diferença quanto ao dentífrico utilizado.

POLLOCK et al. 1984, usaram diferentes métodos (microscopia eletrônica, turbidimetria e liberação de DNA) para avaliar a lise de dois sorotipos e de *Streptococcus mutans* por lisosima e/ou tripsina, em diferentes concentrações de NaHCO_3 e outros íons. A pH 5,2, NaHCO_3 de 0 a 100 mM, exerceu efeito diferente sobre os dois sorotipos testados, mas a 100 mM a lise dos dois sorotipos foi similar. Neste pH, NaSCN , NaCl e NaF não foram efetivos na lise da bactéria oral. *In vivo*, uma combinação de NaHCO_3 , NaSCN e NaCl reduziu os níveis de *S. mutans* em dente molar de hamsters, quando comparado ao controle ou a animais expostos a apenas um dos sais ou a uma combinação de Cl^- e SCN^- somente. Os resultados sugeriram que o bicarbonato é um ânion essencial e juntamente com os ânions salivares monovalentes, tem um papel importante na lise e eliminação das bactérias cariogênicas.

A ação bactericida do bicarbonato em microrganismos patogênicos periodontais foi estudada por **NEWBRUN et al. 1984**. Microrganismos do solo, da pele e da flora supra e subgingival gengival, foram testados quanto a inibição do crescimento e morte

por vários sais : NaCl, NaHCO₃ e MgSO₄. A atividade antimicrobiana de KHCO₃, NaF, laurilsulfato de sódio e cloramina T foram também comparadas. Os patógenos orais foram mais susceptíveis aos sais que as bactérias não orais. Os microrganismos da placa supragengival mostraram susceptibilidade intermediária. NaF, laurilsulfato de sódio e cloramina T tiveram maior atividade antimicrobiana que NaHCO₃. As bactérias supragengivais requereram ao menos 6 horas de exposição a NaHCO₃ 1,0 M para produzir 99% de letalidade, enquanto os patógenos periodontais foram mortos mais rapidamente (30 a 120 min.). Quanto maior a concentração de NaHCO₃, mais rápida a letalidade. Os patógenos periodontais foram mais susceptíveis a NaHCO₃ que a NaCl; NaHCO₃ e KHCO₃ mostraram atividade similar contra todas as espécies testadas, o que sugeriu que a atividade antimicrobiana do NaHCO₃ não é simplesmente um efeito osmótico e é devida ao íon bicarbonato. O possível mecanismo de ação do bicarbonato seria a alteração da fosforilação oxidativa bacteriana.

FLETCHER *et al.* 1984, estudaram, *in vitro*, a eficiência do método de Keyes, que utiliza NaHCO₃/H₂O₂, contra os microrganismos associados à doença periodontal. Os microrganismos testados foram expostos a diferentes concentrações de H₂O₂ (0,025, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3 e 0,5 %) em água destilada ou em solução de NaHCO₃. *Actinomyces naeslundii* e *A. viscosus* toleraram 0,3% de H₂O₂, *M. salivarium* 0,2% e estreptococos 0,5% de H₂O₂. Pequeno tempo de exposição a NaCl ou a NaHCO₃ não resultou em efeito aparente na sobrevivência bacteriana, entretanto, o NaHCO₃ reduziu o efeito antibacteriano do H₂O₂. A eficácia do tratamento de Keyes poderia ser aumentada substancialmente por uma primeira escovação dos sulcos gengivais com H₂O₂ sozinho. Depois da região periodontal ter sido exposta a uma curta oxidação pelo peróxido, um enxágue com NaCl/NaHCO₃ poderia ter um

efeito neutralizador. O NaHCO_3 pareceu decompor o H_2O_2 , o que está de acordo com a incompatibilidade de álcalis com H_2O_2 .

WALSH & KAUFMAN 1985, realizaram um estudo clínico para avaliar se a inclusão do uso de uma mistura de $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ aplicada topicamente e de forma pessoal trazia algum benefício à higiene oral suplementada com escovação, uso do fio dental e limpeza profissional periódica dos dentes. Os resultados sugeriram que o sangramento gengival, a profundidade de sondagem e a redução da placa foram marcadamente reduzidos, mas a subsequente adição da mistura $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, não alcançou qualquer benefício.

Em um estudo clínico realizado para avaliar a eficácia de um dentifício experimental contendo $\text{NaHCO}_3/\text{NaCl}/\text{ZnCl}/\text{NaF}/\text{sílica}/\text{óleos essenciais}$, **WINER et al. 1986** observaram redução do acúmulo de placa e inflamação gengival para os dentifícios teste e controle. Comparação entre os dois grupos indicou uma redução 52% maior na inflamação gengival no grupo que usou o dentifício experimental. A habilidade das duas formulações em remover placa, entretanto, foi similar.

Os efeitos de um pó dental de NaHCO_3 contendo NaF e sacarina sódica na cárie dental e contagem de *S.mutans*, foram estudados por **TANZER et al. 1987**. Ratos SPF foram inoculados com *Streptococcus sobrinus* 6715, tendo sido tratados topicamente com o pó dental ressuspenso (96,18% NaHCO_3 + 0,22% NaF + 1,5% sacarina sódica + 0,1% MgO + 2% flavorizante), ou com NaF (0,073%), ou com NaF suplementado na água de beber (10 ppm F), ou com água desmineralizada. A contagem de *S.sobrinus*, após 37 dias de tratamento, foi menor apenas para o grupo que recebeu o pó dental ressuspenso como tratamento. O

índice de cárie, entretanto, foi 42% menor para os ratos que receberam o pó dental e 47% menor para os que foram tratados com NaF a 10 ppm F na água de beber, diferença essa não significativa. O efeito foi evidente tanto em superfícies lisas como em fissuras.

IGARASHI et al. 1988, estudaram clinicamente o efeito de uma goma de mascar contendo 2% de bicarbonato de sódio no pH de placa interproximal. A queda de pH foi obtida com o uso de uma bala contendo açúcar e o efeito tampão ou neutralizador de uma goma de mascar contendo NaHCO_3 foi determinado usando-se um eletrodo para medição do pH. O pH foi elevado tanto para a goma controle quanto para goma com NaHCO_3 , sendo que a elevação foi 2,6 vezes mais rápida com a goma teste. Em comparação com o grupo controle, a goma de NaHCO_3 promoveu a manutenção do pH a um nível maior por mais tempo.

A ação de um pó dental a base de bicarbonato de sódio (96,18% NaHCO_3 + 0,22% NaF + 1,5% sacarina sódica + 0,1% MgO + 2% flavorizante), ou NaF (tópico - na mesma concentração que o pó dental, ou a 10 ppm F na água de beber), ou água desmineralizada, sobre a contagem de *S.mutans* NCTC 10449S em ratos, foi avaliada por **TANZER et al. 1988**. O pó dental ressuspensão foi aplicado topicamente. Os resultados demonstraram que o pó dental apresentou uma tendência a reduzir a contagem de mutans, quando comparado a água desmineralizada, sem alcançar nível de significância. O índice de cárie foi 51% menor para o pó dental ressuspensão, 36% menor para NaF tópico e 54% menor para flúor adicionado à água de beber. Fluoreto 10 ppm F na água de beber e o pó dental inibiram não só *S.mutans* como também o componente de cárie atribuído à flora indígena oral.

EMLING & YANKELL 1988, realizaram uma avaliação clínica comparativa do efeito de Paradontax® (NaHCO₃/ervas medicinais) e Crest® sobre o acúmulo de placa de uma noite. Os resultados demonstraram que Paradontax® remove placa de uma noite, quando comparado ao basal. Após um curto período de uso de Paradontax®, novo basal foi obtido e então a escovação posterior com Crest® ou Paradontax® não revelou diferença de efeito na remoção da placa. Os autores sugeriram a realização de estudos em larga escala, uma vez que Paradontax® tem baixo índice de abrasividade quando comparado a Crest®.

Com o propósito de avaliar clinicamente o efeito antiplaca e antigengivite dos dentífricos Paradontax®, Crest Tartar Control® (contendo pirofosfato), comparados a um dentífrico placebo, **YANKELL & EMLING 1988** observaram que Paradontax® foi mais efetivo que o placebo e Crest® em reduzir o sangramento na sondagem, não havendo diferença entre qualquer dos três dentífricos em redução da área de placa.

MURAI *et al.* 1988, conduziram um estudo clínico para testar a ação antigengivite e antiperiodontite do Paradontax®, comparado a um dentífrico sem ervas e adicionado de fosfato de cálcio ao invés de bicarbonato de sódio. Os autores concluíram que ao final do estudo não houve diferença no índice de sangramento, índice de placa, índice de cálculo e profundidade da bolsa, entre os dois dentífricos testados.

O efeito da aplicação tópica de dentífricos contendo bicarbonato de sódio, MFP ou NaF, na incidência de cárie em ratos, foi testado por **HOLZER 1988**. Os dentífricos testados, tendo como controle água, foram Paradontax Classic® (68% de NaHCO₃/ervas medicinais), Paradontax + F (68% de NaHCO₃/ervas medicinais /1000 ppm F-MFP),

Paradontax N (45% de NaHCO₃/ervas medicinais), Paradontax® F (45% de NaHCO₃/ervas medicinais /1000 ppm F-MFP), Peak (60% de NaHCO₃), Aim Regular Strength® (1000 ppm F-MFP), Aim Extra Strength® (1500 ppm F-MFP) e Crest Mint Flavor® (1000 ppm F-MFP). Os resultados demonstraram que os dentifícios contendo apenas ervas e NaHCO₃ (68 ou 45%) foram eficazes em reduzir cárie quando comparados à água, mas não o dentifício contendo 1000 ppm F (Aim Regular Strength®). Os autores sugeriram que não somente o fluoreto é capaz de reduzir a incidência de cárie, sendo que um potencial anti-cárie significativa seria também evidente em preparações contendo bicarbonato e ervas medicinais.

BELLET & BELLET 1988, avaliaram clinicamente o efeito de Paradontax® (NaHCO₃/ervas medicinais) e Colgate MFP® sobre os índices de placa e gengival. Eles observaram que 80% dos indivíduos que usaram Paradontax® não apresentaram placa ou sangramento gengival ao final do experimento. Quando comparado com Colgate MFP® o índice de sucesso total foi de apenas 30%.

Vários parâmetros *in vitro* (MIC e zona de inibição de crescimento) foram usados por **YANKELL et al. 1988**, para avaliar a ação, contra *S.mutans* e *A. viscosus*, do dentifício Paradontax®, comparado aos enxaguatórios Viadent®, Peridex® (0,12% de clorexidina) e Listerine®, e a outros dentifícios (Crest®, Crest Tartar Control®, Colgate® e Colgate Tartar Control®). A glicólise salivar foi também determinada para comparar os dentifícios. Os resultados sugeriram que Paradontax® foi significativamente superior a todos os outros produtos testados, com exceção do enxaguatório Peridex®, para o qual sua ação foi equivalente.

Vários fatores de crescimento, adicionados a meios de cultura, foram testados por **FIGG 1989**, *in vitro*, em espiroquetas isoladas de placa subgengival de pacientes com periodontite marginal avançada. NaHCO_3 em baixas concentrações (0,5%) estimulou o crescimento microbiano e em altas concentrações (2,0%) inibiu.

HATTAB 1989, conduziu um estudo com o objetivo de testar a compatibilidade do flúor com diferentes sistemas abrasivos (agentes de limpeza e polimento) usados em formulações de dentífrícios e de monitorar o efeito do agente na disponibilidade do flúor na mistura F/abrasivo. Após 30 meses, o dentífrício contendo NaF e bicarbonato de sódio apresentou 92% do seu conteúdo inicial de flúor disponível na forma de flúor solúvel.

Em estudo realizado para avaliar se o efeito de um dentífrício a base de NaHCO_3 é dependente do flúor, **Mc MAHON et al. 1989** submeteram ratos inoculados com *S.mutans* 10449S, recebendo dieta cariogênica, a tratamento tópico com suspensão de dentífrício a base de NaHCO_3 adicionado ou não de 0,22% de NaF, ou com sol. de NaF 0,073%. Os resultados mostraram que o dentífrício de NaHCO_3 fluoretado reduziu em 53 a 68% a contagem microbiológica em comparação com água e dentífrício de NaHCO_3 não fluoretado, sendo que os dois últimos resultaram no mesmo índice de cárie. O tratamento com o dentífrício de NaHCO_3 fluoretado resultou em 31 a 32% de redução do índice de cárie, quando comparado à água e dentífrício sem flúor. O efeito da sol. de NaF 0,073% foi similar ao dentífrício contendo NaHCO_3 mais flúor. Os resultados sugeriram que a ação inibidora de cárie do dentífrício de NaHCO_3 fluoretado é dependente do seu conteúdo de NaF.

GRANT et al. 1989, estudaram o efeito inibitório de um dentifício fluoretado a base de NaHCO_3 , comparado a pó de NaHCO_3 (fluoretado), Crest® (NaF) e água desmineralizada sobre cárie de ratos. Eles observaram que o tratamento tópico com qualquer dos produtos em teste resultou em valores equivalentes de redução de *S. mutans*. O índice de cárie foi reduzido em torno de 30 a 31% , não havendo diferença significativa entre um pasta fluoretada padrão (Crest ® NaF), pó de NaHCO_3 fluoretado ou dentifício de NaHCO_3 fluoretado.

Em outro estudo, realizado com a finalidade de avaliar em ratos o efeito anti mutans e anti-cárie de diversos dentifícios, **TANZER et al. 1990a** submeteram os animais a tratamento tópico com dois dentifícios a base de NaHCO_3 (sendo um o dentifício Dental Care®), Dental Care® sem flúor, Colgate MFP®, sol. NaF 0,22% ou com água desmineralizada. Os resultados mostraram não haver diferença significativa na contagem de mutans entre todos os grupos. O índice total de cáries (26 a 46% de redução, comparado a água desmineralizada) não foi diferente entre os dois dentifícios fluoretados a base de NaHCO_3 e sol. NaF 0,22%. Os índices foram intermediários para Dental Care® sem flúor e Colgate MFP®. NaF em dois dentifícios a base de bicarbonato manteve o nível de atividade anti cárie na sua totalidade e esta atividade foi maior que aquela do Dental Care® sem flúor ou Colgate MFP®.

MURPHY et al. 1990, conduziram um estudo para avaliar a ação de dentifícios fluoretados com bicarbonato de sódio sobre a desmineralização intra-oral. Blocos de esmalte bovino cobertos com *S mutans*, em dispositivos palatinos intra-orais, foram usados

por voluntários e foram tratados com suspensão do pó ou da pasta dental (0,07% NaF) e depois com sacarose a 10%. Com o pó ou pasta, a desmineralização foi reduzida em 8,3 e 2,7 unidades, respectivamente e os pH de placa correspondentes foram 6,9 e 5,8. Outro dentifrício comercial contendo NaF deu resultados similares. O pó ou a pasta desprovido de NaF não exerceu efeito na desmineralização, embora os efeitos tamponantes tenham sido evidentes. Os resultados demonstraram que dentifrícios a base de bicarbonato de sódio contendo NaF, reduzem a desmineralização intra-oral, sendo o efeito mantido por prolongado período de tempo.

Para avaliar o efeito de um pó e um dentifrício a base de NaHCO_3 na cárie dental, **TANZER *et al.* 1990b** usaram de um modelo animal e formulações com NaHCO_3 a 96,18% (pó) ou a 65% (pasta), ambas contendo 0,22% de NaF. A contagem de *S.sobrimus* foi 75% menor para ambos os tratamentos, quando comparado à água desmoneralizada, e o índice de cárie foi 45% menor para pó e 43% menor para o dentifrício, sendo o maior efeito de inibição verificado em superfície lisa.

TALLER 1990, comparou a eficácia dos dentifrícios Colgate Tartar Control®, Crest Tartar Control®, ambos com 3,3% de pirofosfato, e uma formulação a base de bicarbonato de sódio, comparados a um controle sem pirofosfato. Os autores sugeriram que uma adequada higiene oral parece ser mais importante no controle do cálculo dental, uma vez que nenhuma das três formulações inibiu a sua formação.

TERZOGLOU & CLARKSON 1991, investigaram o efeito *in vitro* de um dentifrício com flúor, a base de bicarbonato de sódio, sobre a des e remineralização em

esmalte humano. Os dentífricos testados foram NaHCO_3 (Arm & Hammer®), adicionado ou não de flúor, e pasta fluoretada padrão (Crest®). Os dentífricos fluoretados mostraram inibição da desmineralização e aumento de remineralização.

O efeito de um dentífrico a base de ervas, contendo bicarbonato (Paradontax®), sobre a placa e a gengivite, foi estudado por **MORAN *et al.* 1991**. O efeito do dentífrico, na forma de suspensão, foi comparado clinicamente a um dentífrico fluoretado comercial (Colgate®) e a um bochecho de clorexidina. Os índices de placa e gengivite foram menores para o bochecho de clorexidina, quando comparada aos dois dentífricos, não havendo diferença no efeito promovido pelo dentífrico fluoretado comercial e o dentífrico de bicarbonato a base de ervas.

MACPHERSON *et al.* 1991, investigaram *in vitro* o efeito da velocidade do filme salivar e seu conteúdo de bicarbonato sobre as alterações de pH em placa artificial de *Streptococcus oralis*, exposta a sacarose. Os resultados sugeriram que após a ingestão de sacarose, o rápido aumento do pH, que pode ser alcançado por estímulo do fluxo salivar com goma de mascar, é devido ao efeito combinado do aumento da velocidade do filme salivar e de uma maior disponibilidade de íons bicarbonato (verificada com a adição de HCO_3^- a 15 mM na saliva artificial).

O efeito de uma pastilha tamponante no pH intra-oral, foi estudado por **NILNER *et al.* 1991**. Em um experimento clínico, pastilhas contendo tampão fosfato e bicarbonato (Profylin®) foram usadas sozinhas ou 10 minutos após bochecho com sacarose a

10%. Os resultados indicaram que a pastilha tamponante aumenta o pH da placa e da saliva e acelera a recuperação depois de um bochecho de sacarose.

A abrasividade e poder de limpeza de diversos dentífricos foi comparada por **SCHEMEHORN et al. 1992**, utilizando um índice que enfatiza limpeza associada a baixa abrasão. Foram testados : pirofosfato de cálcio, sílica hidratada, sílica alumina, fosfato de cálcio diidratado, bicarbonato de sódio e bicarbonato de sódio mais sílica. O índice de eficiência do bicarbonato foi de -0,34, contra um melhor desempenho de 1,54 para pirofosfato de cálcio.

TANZER et al. 1992, estudaram em ratos o efeito de inibição de cálculo dental de dentífricos a base de bicarbonato de sódio (30 e 60%) contendo pirofosfato (1,3%) e um dentífrico fluoretado padrão (Crest®), quando comparados a água desmineralizada. Eles observaram que os dentífricos contendo pirofosfato reduziram os depósitos em 30 a 56%, quando comparados ao controle. Um grupo tratado com 2% de pirofosfato e 60% bicarbonato apresentou uma tendência maior a reduzir cálculo dental que as outras formulações, mas não significante.

LINGSTROM et al. 1992, estudando clinicamente o efeito do uso de gomas de mascar contendo uréia ou bicarbonato, sobre a recuperação do pH de placa, observaram após bochecho com sacarose 50%, uma elevação de pH com todas as formulações usadas. O efeito mais pronunciado foi com 60 mg de uréia.

Com o propósito de avaliar o benefício motivacional de um dentífrico de $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, **FISCHMAN et al. 1992b** testaram a aceitação da mistura, contendo fluoreto,

por pacientes e dentistas, pelo período de três meses. A redução dos sítios de sangramento foi de 62%, quando comparado ao baseline. O dentífrico foi bem aceito por dentistas e pacientes e uma melhora discernível na saúde oral dos pacientes foi observada quando o produto foi usado em um programa de conscientização para uma boa higiene oral. A metodologia utilizada não permitiu diferenciar o efeito isolado do bicarbonato de sódio.

FISCHMAN *et al.* 1992a testaram o efeito de um dentífrico contendo 0,75% de H_2O_2 e 5% de $NaHCO_3$ (sem fluoreto) quanto à descalcificação do esmalte e segurança. Eles observaram *in vitro* que o dentífrico teste não descalcifica o esmalte nem branqueia os dentes. Clinicamente, o produto foi comparado ao dentífrico Aim® (1000 ppm F/sílica) e os resultados demonstraram não ocorrer alteração dos tecidos moles nem aumento na incidência e contagem de candida.

Uma técnica de reflexão a laser foi usada por **JOHANSEN *et al.* 1993** para avaliar o efeito de limpeza produzido pela escovação com diferentes dentífricos : bicarbonato de sódio, silicato de alumínio/carbonato de cálcio/fosfato de cálcio diidratado e dióxido de silicone/fosfato de cálcio diidratado. Os resultados sugeriram que o dentífrico contendo $NaHCO_3$ como abrasivo foi o menos efetivo.

O efeito clínico de um bochecho de benzoato de sódio/bicarbonato de sódio na formação da placa dental e na gengivite, foi estudado por **OZANICH *et al.* 1993**. O composto foi comparado a clorexidina 0,15% e os resultados indicaram que houve um aumento significativo no acúmulo de placa com o grupo teste e o placebo, quando comparados ao baseline. O grupo clorexidina não apresentou acúmulo de placa. Ocorreu

aumento da inflamação gengival em todos os grupos, sem diferença entre cada tratamento. Sangramento gengival ocorreu mais rapidamente com benzoato de sódio/bicarbonato de sódio, quando comparado ao placebo.

TANZER *et al.* 1993, comparando diversas formulações anti tártaro (Arm & Hammer Dental Care Tartar®, Crest Tartar®, Colgate Tartar®, todas com NaF e pirofosfato) com Dentifício USP e A&H Dental Care® sem fluoreto e pirofosfato, verificaram que todos os dentifícios reduziram, em ratos, o nível de *S.mutans* a 21-37% da flora total, não havendo diferença entre eles. A&H Dental Care Tartar® e Crest Tartar® reduziram cárie em 44%, não diferindo significativamente do dentifício USP (redução de 33%).

Um dentifício contendo 5% de NaHCO₃, 0,75% de H₂O₂ e 0,24% de NaF (Metadent®), foi avaliado por **DENTINO *et al.* 1993** quanto ao efeito na cicatrização pós cirúrgica. Todos os indicadores clínicos (profundidade de sondagem, nível de inserção, índice gengival e índice de sangramento) foram similares para o dentifício teste e para o controle (dentifício fluoretado a 0,24% de NaF), havendo um favorecimento do dentifício teste sobre cicatrização de ferida nos diferentes períodos de observação. Não foram notados efeitos adversos nos tecidos moles ou restaurações de amálgama. Os resultados sugeriram que o dentifício teste é seguro para ser usado após cirurgias periodontais, podendo ter um efeito benéfico na cicatrização da ferida. A metodologia utilizada não possibilitou diferenciar o efeito isolado do bicarbonato.

A redução do mau hálito oral após utilização de um dentifício com bicarbonato de sódio foi avaliada por **NILES *et al.* 1993**, em um estudo clínico no qual o dentifício de

NaHCO₃ (25%) foi comparado a um dentífrico fluoretado convencional. Os resultados demonstraram redução dos compostos sulfídricos em ambos os produtos, com 43,8% para o dentífrico a base de NaHCO₃ e 30,8% para fluoreto convencional, sendo a redução alcançada pelo dentífrico de NaHCO₃ significativamente mais efetiva.

MARSHALL *et al.* 1993 investigaram a cocarcinogenicidade de um dentífrico contendo 1,5% de H₂O₂ e NaHCO₃ em tumor de bochecha de ratos e verificou que o uso do dentífrico administrado concomitantemente a um agente cancerígeno não aumentou a incidência do tumor nem diminuiu seu período de latência, comparado aos animais que receberam o agente cancerígeno sozinho.

A eficácia de limpeza de um dentífrico H₂O₂/NaHCO₃ tendo sílica como abrasivo, foi comparada com outros produtos (pó NaHCO₃ e dentífrico NaHCO₃), por **HART & CANCRO 1993**. Eles observaram que o dentífrico H₂O₂/NaHCO₃/sílica alcançou uma redução maior da mancha que o sistema abrasivo com NaHCO₃, não sendo possível diferenciar o efeito isolado do NaHCO₃.

YANKELL *et al.* 1993 desenvolveram um estudo clínico para avaliar a eficácia do Paradontax® (contendo ervas e NaHCO₃) sobre a placa e a gengivite, quando comparado a um placebo contendo carbonato de cálcio. Os resultados sugeriram que Paradontax® foi equivalente ou superior ao dentífrico placebo na redução da extensão da placa, sangramento na sondagem e gengivite.

Um estudo clínico foi conduzido por **O'MULLANE *et al.* 1994** para comparar a efetividade de um enxaguatório pré escovação (contendo NaHCO₃, benzoato de sódio,

laurilsulfato de sódio e salicilato de sódio), com água ou só escovação, na remoção da placa. O índice de placa da pré escovação menos o índice da pós escovação, foi maior para o grupo que utilizou o enxaguatório, entretanto o índice de sangramento gengival foi o mesmo em qualquer dos grupos.

Usando um modelo de cárie de raiz *in vitro*, **HEILMAN & WEFEL 1994** compararam a ação de vários dentífrícios fluoretados com NaHCO₃ (Arm & Hammer®, Colgate® e Crest®) e sem NaHCO₃ (Crest®), e um dentífrício placebo sem NaF. As lesões foram avaliadas por microscopia de luz polarizada, após ciclagem des-re. Resultados de profundidade de lesão mostraram pouca diferença entre os três dentífrícios contendo NaHCO₃ e o dentífrício sem NaHCO₃, indicando que a presença de NaHCO₃ nem inibe nem aumenta a ação do fluoreto na cárie de raiz.

WEFEL et al. 1994 usaram um modelo intra-oral para comparar o efeito de dentífrícios fluoretados, adicionados ou não de NaHCO₃ (0 ppm F, 250, 650, 1100 e 1100 ppm F/NaHCO₃) na des-re, através de microscopia de luz polarizada. Os resultados mostraram que a lesão aumentou de tamanho em todos os grupos, sendo três vezes maior no dentífrício sem fluoreto. O dentífrício com 1100 ppm F apresentou 77±111% de aumento, o de 1100 ppm F/NaHCO₃ 66±102% e ambos foram significativamente melhores que o de 250 ppm F (154±145%). Os resultados sugeriram que o dentífrício Arm & Hammer Dental Care Gel® teve um desempenho equivalente ao Crest Gold Standard®.

Um estudo clínico foi conduzido para comparar a efetividade de diversos dentífrícios fluoretados e dentífrícios NaHCO₃/F⁻ na des-re, em um modelo intra-oral.

HARLESS *et al.* 1994 observaram que o dentifício Arm & Hammer Dental Care® (1100 ppm F / NaHCO₃) foi equivalente ao Crest Gold Standard® (1100 ppm F).

BEST *et al.* 1994, estudaram em ratos a eficácia de um dentifício contendo NaF, pirofosfato solúvel e NaHCO₃ a 20% (Crest Tartar Control® com 20% NaHCO₃) com o dentifício Crest Tartar Control® (1100 ppm F), comparados a um placebo sem flúor. Eles observaram que a adição de 20% de NaHCO₃ ao Crest Tartar Control® não tem efeito adverso na sua eficiência anti-cárie.

A eficácia do dentifício Mentadent® (NaHCO₃/H₂O₂/NaF) em reduzir a desmineralização do esmalte foi testada por **KASHKET *et al.* 1994**, que compararam o dentifício a base de NaHCO₃ com Crest® regular. Um modelo de desmineralização intra-oral foi usado e os resultados sugeriram que Mentadent® foi comparável ao Crest® no efeito de proteção do esmalte contra a desmineralização. Ambas as formulações continham 1150 ppm F.

Um ensaio clínico foi desenvolvido por **MULLALLY *et al.* 1995** para investigar a efetividade de um dentifício a base de ervas, com NaHCO₃ (Paradontax®) no controle da placa e gengivite, quando comparado a um dentifício tradicional (Colgate®). Os parâmetros avaliados foram índice de placa, índice gengival, sangramento e fluxo do fluido gengival. Eles observaram que os índices foram diminuídos em ambos os tratamentos, entretanto, não houve diferença significativa entre os dois dentifícios.

Com o propósito de avaliar a eficácia clínica da associação pirofosfato/bicarbonato de sódio na formação do cálculo dental, **PUTT *et al.* 1995** usaram um modelo de cálculo humano e testaram os dentífricos Arm & Hammer Dental Care Tartar Control® (com NaHCO₃ e 1,3 % de P₂O₇⁴⁻) e Crest®. Após duas semanas do uso dos produtos, os indivíduos que usaram o dentífrico Arm & Hammer Dental Care Tartar Control® tiveram 30% menos cálculo que os que usaram Crest®, indicando um resultado significativamente melhor.

Com o objetivo de avaliar clinicamente o efeito dos dentífricos Crest® NaHCO₃ e Crest® NaHCO₃/pirofosfato, **SEGRETO *et al.* 1995b** conduziram um estudo clínico para avaliar redução na formação de cálculo. Os resultados indicaram que, em relação ao controle (Crest® sem NaHCO₃), Crest® NaHCO₃ não reduziu significativamente a formação de cálculo, ao contrário do dentífrico Crest® NaHCO₃/pirofosfato que foi clinicamente efetivo.

SEGRETO *et al.* 1995a, avaliaram clinicamente a eficácia anti-cálculo de dois dentífricos a base de bicarbonato (27%), com sílica, contendo dois níveis de pirofosfato (1,3 e 3,5%). Uma significativa redução na formação do cálculo foi observada em ambos os produtos com sílica e bicarbonato, contendo 1,5 ou 3,5% de pirofosfato, quando comparado ao controle sílica (Crest®).

TAYLOR *et al.* 1995, testaram clinicamente os dentífricos anti-tártaro Mentadent® (NaHCO₃/H₂O₂/F⁻/Zn/citrato) e Crest® anti-tártaro, comparados a um dentífrico fluoretado padrão (Crest® regular). Os resultados sugeriram que ambos os

dentifrícios anti-tártaro reduzem a espessura do tártaro e facilitam sua remoção, quando comparado dentifrício fluoretado padrão, não havendo diferença significativa entre eles.

Um estudo *in vitro*, realizado por **SRIKANTHA et al. 1995**, testou a ação do bicarbonato de sódio (0,2 a 4,0%) em combinação com um tensoativo comumente adicionado em dentifrícios, o duodecil sulfato de sódio (0,005 a 0,05%), contra *S mutans*. O NaHCO₃ provocou 100% de morte, mas apenas a concentrações superiores a 5%. Estudos combinados revelaram um aumento marcante na atividade antimicrobiana quando NaHCO₃ foi associado ao tensoativo, e a adição de fluoreto pareceu não ter efeito. Os autores sugerem que a atividade do bicarbonato não é devida à sua força iônica ou ao pH alcalino.

MARKS et al. 1995a, investigaram a eficácia e segurança do dentifrício Arm & Hammer Dental Care Tartar Control® (3,5% de pirofosfato e 55% de NaHCO₃) comparado a um dentifrício fluoretado padrão. A avaliação dos parâmetros clínicos indicou que o dentifrício com pirofosfato/ bicarbonato foi superior ao dentifrício padrão na redução do tártaro, após três meses. A metodologia usada não permitiu avaliar a ação isolada do bicarbonato na redução do tártaro.

Um dentifrício anti-tártaro a base de NaHCO₃/H₂O₂/F/Zn/citrato (Mentadent®), foi comparado a um dentifrício fluoretado padrão (Crest® regular) e um dentifrício anti-tártaro comercial (Crest®anti-tartar), por **MARKS et al. 1995b**, que conduziram um estudo clínico com o propósito de avaliar a eficácia e segurança das formulações. Os resultados indicaram uma redução no tártaro de 24% para ambos os

dentifrícios anti-tártaro, quando comparado ao dentifrício padrão. Não foram observadas reações adversas ou complicações.

TANZER *et al.* 1995, estudaram em ratos dentifrícios a base de NaHCO_3 , contendo diferentes níveis de flúor na forma de NaF (3000, 1100, 650, 250, 125 e 0 ppm F), quanto à capacidade de reduzir a contagem de *S.mutans* e o índice de cárie. Os resultados sugeriram que todos os dentifrícios reduziram a contagem microbiana, não havendo diferença significativa entre as formulações. Para índice de cárie, os dentifrícios de NaHCO_3 com 3000, 1100 (Arm & Hammer Dental Care®) e 650 ppm F promoveram redução de cárie em torno de 50%, quando comparados ao dentifrício isento de fluoreto, não havendo diferença significativa entre os resultados dos dentifrícios fluoretados.

Os efeitos de um dentifrício a base de bicarbonato de sódio sobre a contagem microbiana de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos em saliva, foram avaliados clinicamente por **LEGIER-VARGAS *et al.* 1995**. Foram testadas duas formulações contendo NaHCO_3 , Arm & Hammer Dental Care® (contendo 65% de bicarbonato e 1100 ppm F) e Arm & Hammer Dental Care® (contendo 65% de bicarbonato, sem fluoreto), contra um dentifrício placebo, sem NaHCO_3 e sem fluoreto. Os autores observaram que ambos os dentifrícios com NaHCO_3 reduziram a contagem de estreptococos do grupo mutans em saliva, quando comparados ao placebo, não havendo diferença entre eles. Embora não significante, uma tendência similar foi observada com lactobacilos.

A eficácia anti-cárie de um dentifrício anti-tártaro (Colgate Tartar Control Baking Soda Peroxide® com $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{MFP}$ /pirofosfato) foi avaliada por **ROBERSON**

et al. 1996, em um modelo de cárie intra-oral. Dentifrícios a base de sílica, contendo 0, 250 e 1000 ppm F (MFP) foram comparados a Colgate Tartar Control®, sendo as áreas de lesão determinadas por radiografia. Os resultados indicaram que Colgate Tartar Control® com NaHCO₃/H₂O₂ /MFP promoveu remineralização tão bem quanto o dentifrício sílica/1000 ppm F.

ZHANG et al. 1996, testaram a eficácia anti-cárie do Colgate Tartar Control® com NaHCO₃/peróxido de cálcio/MFP (12%, 0,5%, 1000 ppm F, respectivamente, contendo 23% de sílica, 2% de sulfato pirofosfatotetrassódico e 30% de tripolifosfatosódico), comparado a dentifrícios de sílica/MFP com concentrações de 0 a 1000 ppm (MFP). Usando um modelo de remineralização intra-oral e técnica de microdureza de superfície, os autores observaram que ambos os dentifrícios com 1000 ppm F promoveram significativamente mais remineralização que os dentifrícios com 0 e 250 ppm F, não havendo diferença entre os dois primeiros, ou seja, Colgate Tartar Control® efetivamente remineraliza o esmalte e sua eficácia anti-cárie não é afetada por outros ingredientes.

Com o propósito de investigar a estabilidade, a liberação e eficácia anti-cárie *in vitro* do fluoreto no dentifrício Colgate Tartar Control® (contendo NaHCO₃/peróxido de cálcio/MFP/pirofosfato), comparado à Colgate sílica/MFP, **CRAWFORD et al.** 1996 conduziram um estudo em que os dentifrícios envelhecidos tiveram seu conteúdo de flúor determinados por cromatografia. Nenhuma diferença significativa foi encontrada na quantidade de fluoreto liberado por estes dois dentifrícios. Comparando com um dentifrício placebo de sílica, a liberação de fluoreto e biodisponibilidade de ambos os dentifrícios com 1000 ppm F

foram melhores que o placebo na redução da solubilidade do esmalte, promovendo incorporação do flúor, sendo que Colgate Tartar Control® foi significante melhor que MFP/silica na redução da solubilidade do esmalte.

HASHIZUME *et al.* 1996, estudaram o efeito aditivo do NaHCO₃ na ação cariostática do flúor, usando um modelo intra-oral de cárie. Foram testados dentífricos com 1500 ppm F, 1500 ppm F mais 20% de NaHCO₃ comparados a um placebo. Análises do conteúdo de flúor e polissacarídeos insolúveis na placa dental e de microdureza, sugeriram que o NaHCO₃ não melhora o efeito do fluoreto no dentífrico.

O efeito do NaHCO₃, nas concentrações que podem ser alcançadas na boca após escovação com o dentífrico Arm & Hammer®, na retenção de biofilme de células de *S.mutans* e *Actinomyces naeslundii*, foi estudado *in vitro* por **NELSON & LI 1996**. Os resultados sugeriram que o NaHCO₃ promove a remoção de biofilmes de células de *S.mutans* mas não de *A. naeslundii*. Os autores sugerem que durante a escovação o NaHCO₃ poderia remover as bactérias do dente, particularmente aquelas da placa primária, predominantemente os estreptococos.

DAWES 1996, investigou *in vitro* o efeito do NaHCO₃ (Arm & Hammer® Dental Care) na curva de Stephan, comparando-o com dentífrico fluoretado padrão (Colgate® regular). NaHCO₃ em concentrações próximas a 0,5 mol/L causou um rápido restabelecimento do pH de placa à neutralidade, não havendo diferença estatística entre os efeitos do Arm & Hammer® Dental Care e das soluções de NaHCO₃ nas mesmas

concentrações. Os resultados sugeriram que o uso do dentífrico teste, quando o pH de placa está no valor crítico, poderia resultar em um rápido retorno do pH à neutralidade.

YASKELL *et al.* 1996, conduziram um estudo para investigar se os altos níveis de NaHCO_3 em um dentífrico poderia afetar a desmineralização induzida por sacarose intraoralmente. Uma formulação contendo bicarbonato de sódio (não fluoretada) foi mais efetiva em reduzir a desmineralização do esmalte que uma formulação contendo apenas sílica. Os resultados sugeriram que o bicarbonato foi retido na matriz da placa aumentando o pH, e por meio disto reduzindo a desmineralização.

Com o propósito de avaliar o efeito na glicólise e crescimento da placa, **BACCA *et al.* 1996b** usaram um modelo *in situ*, para comparar Crest Gum Care® (com 0,454% de SnF_2), Mentadent Baking Soda & Peroxide® (com 0,243% de NaF) e Advanced Formula Crest® (com 0,243% de NaF). Os resultados sugeriram que Advanced Formula Crest® foi mais efetivo que Mentadent Baking Soda & Peroxide® na redução da atividade de crescimento e glicólise da placa.

BACCA *et al.* 1996a, estudaram clinicamente a eficácia antimicrobiana dos dentífricos Crest Gum Care® (0,454% SnF_2), Mentadent Baking Soda & Peroxide® (0,243% NaF/ $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$) e Advanced Formula Crest® (0,243% NaF). Eles observaram que as superfícies de gengivas tratadas com Crest Gum Care® pasta ou gel, apresentaram significativamente menos bactérias facultativas anaeróbicas que as tratadas com Mentadent Baking Soda & Peroxide® ou Advanced Formula Crest®.

A inibição de cálculo dental por dentifrícios à base de bicarbonato contendo óxido de zinco ou pirofosfato, foi estudada clinicamente por **PUTT *et al.* 1996**. Quando comparado a um dentifrício de sílica, o índice de cálculo foi significativamente menor para pasta e gel com pirofosfato e para gel de óxido de zinco, mas não para pasta de óxido de zinco. O gel de óxido de zinco não foi diferente dos dentifrícios com pirofosfato. Os autores concluíram que os dentifrícios a base de bicarbonato contendo óxido de zinco (na forma de gel) ou pirofosfato (na forma de gel ou pasta) foram equivalentes na redução do cálculo em humanos.

MILLEMAN *et al.* 1996, avaliaram clinicamente a ação de dentifrícios a base de bicarbonato, contendo zinco ou pirofosfato, na formação de cálculo, quando comparado a um dentifrício de sílica. Todos os dentifrícios de bicarbonato reduziram o cálculo, sendo que as pastas de sais de zinco (2% e 5% de ZnO e 3,78% de NaZnCO₃) não foram diferentes de um dentifrício com pirofosfato (Arm & Hammer Dental Care Tartar Control®).

Com o propósito de investigar o efeito dos dentifrícios Crest ® regular, Crest Gum Care® (0,454% SnF₂) e Mentadent® (contendo NaHCO₃), no metabolismo da placa, **SAGEL *et al.* 1996** conduziram um estudo no qual a glicólise foi determinada potenciométricamente, por adição de NaOH após o acerto inicial para pH 7,0 e adição de sacarose a 2%. O tempo de latência da glicólise foi menor para Mentadent®, quando comparado com os outros dentifrícios, embora após o período de latência inicial, a glicólise para placa tratada tenha sido surpreendentemente similar à placa não tratada.

SHARMA et al. 1996, avaliaram clinicamente a capacidade de limpeza e segurança em dois dentífricos a base de NaHCO_3 . Os resultados sugeriram que ambos os produtos são seguros (não causaram reação adversa), sendo que a formulação com peróxido de cálcio/ NaHCO_3 /ingredientes anti-tártaro foi mais efetiva na limpeza dos dentes que a formulação com 50% de bicarbonato de sódio.

A eficácia anti-cálculo de um dentífrico contendo bicarbonato de sódio, peróxido de cálcio, pirofosfato tetrasódico, trifosfato pentasódico e MFP, foi testada clinicamente por **DE VIZIO et al. 1996**. Os resultados sugeriram que o dentífrico teste foi mais efetivo na redução do cálculo supragengival que um dentífrico fluoretado a base de sílica. A metodologia utilizada não permitiu avaliar o efeito isolado do bicarbonato de sódio na redução do cálculo.

BANOCZY et al. 1997, testaram clinicamente o efeito de soluções puras de NaHCO_3 e suspensões de dentífricos fluoretados a base de NaHCO_3 , na variação do pH da placa dental após desafio cariogênico. Uma clara elevação na recuperação do pH de placa pode ser observada com a suspensão $\text{NaHCO}_3/\text{F}^-$ e significativo aumento foi obtido no valor de pH mínimo da curva de Stephan, quando comparado ao dentífrico contendo apenas flúor. Os resultados sugeriram que NaHCO_3 adicionado ao dentífrico pareceu ser um tampão efetivo na estabilização do pH da placa dental.

Com o objetivo de avaliar a segurança e eficácia branqueadora de formulações de dentífricos a base de bicarbonato de sódio, comercialmente disponíveis, **SHARMA et al. 1997** realizaram um ensaio clínico, no qual os voluntários usaram um dentífrico com NaHCO_3

a aproximadamente 50%, comparado a uma formulação NaHCO₃/peróxido de cálcio/substâncias para o controle do tártaro. Ao final do estudo os autores não observaram reações adversas com o uso de qualquer dos produtos. Os resultados sugeriram que o dentífrico a base de bicarbonato de sódio, contendo peróxido de cálcio e substâncias para o controle do tártaro, apresentou melhor efeito branqueador, quando comparado ao dentífrico contendo apenas NaHCO₃ sozinho.

A efetividade de diferentes marcas de dentífricos na inibição de cáries em ratos, foi testada por **GUGGENHEIM *et al.* 1997** em dois experimentos usando dieta cariogênica com sacarose a 20% e a 40%. Os autores observaram haver diferença na ação anticárie dos dentífricos quando são usadas dietas com diferentes teores de sacarose, sendo o efeito de redução da extensão da placa de Mentadent C® observado com os dois níveis de concentração de sacarose, e Paradontax NF® observado apenas quando se usou dieta com sacarose a 20%. Eles concluíram que a diferença na efetividade de inibição de cárie entre os diferentes dentífricos testados (Meridol®, Colgate Total®, Dent X press®; além dos já mencionados) não pode ser explicada ou pela forma do fluoreto utilizada ou pelos agentes antimicrobianos adicionados, ou seja, seria sobretudo atribuída a uma ação combinada de substâncias específicas.

LANDRIGAN *et al.* 1997, conduziram um estudo em ratos para verificar a eficácia de produtos existentes no mercado com a finalidade de promover uma melhora da saúde bucal e gengival. O estudo comparou Crest Gum Care®, Listerine® (dentífrico com óleos essenciais e MFP) e Colgate Tartar Control® (NaHCO₃/peróxido/MFP). Os resultados

sugeriram que os dentifrícios fluoretados marca registrada tiveram maior eficácia anti-cárie que um dentifrício experimental com 250 ppm F (NaF), sendo o mais alto nível de proteção alcançado por Crest Gum Care®.

Usando análise digital de imagem de placa, **SAGEL & WHITE 1997** conduziram um estudo clínico para comparar o efeito, na remoção da placa e na redução do crescimento de placa, dos dentifrícios Crest Plus Gum Care® (0,454% de SnF₂), Mentadent Gum Care® (2% citrato zinco/0,76% MFP/NaHCO₃) e Crest® regular (0,243% NaF). Eles observaram não haver diferença na capacidade de remoção de placa entre os produtos testados. Crest Plus Gum Care® promoveu o melhor efeito de redução do crescimento da placa, enquanto os outros dois produtos não foram efetivos, em relação ao baseline. Os autores sugeriram que a ação antimicrobiana de SnF₂ foi superior à promovida por citrato de zinco/NaHCO₃/peróxido/NaF.

MILLEMAN *et al.* 1997, avaliaram a ação anti-cálculo de diversos dentifrícios a base de bicarbonato de sódio contendo diferentes sais de zinco, num modelo de formação de cálculo humano. Os dentifrícios citrato ou óxido de zinco 2%/NaHCO₃ e A&H Dental Care Gel® (NaHCO₃/pirofosfato) reduziram cálculo significativamente, quando comparado a Aim Regular Gel®, não havendo diferença entre eles.

Um ensaio de mutagenicidade bacteriana, de formação de radicais hidroxil, de liberação de anidrido e de capacidade de irritação e sensibilização, foi realizado por **WILD *et al.* 1997**, para avaliar a segurança do dentifrício Colgate Tartar Control® (com NaHCO₃/peróxido). Eles sugeriram que o dentifrício não foi mutagênico em um modelo

bacteriano, não foi irritante para a mucosa oral de rato e não induziu irritação ou sensibilização em humanos.

Um ensaio *in vitro* foi realizado por **MEIER & DRAKE 1997**, para comparar a ação bactericida e bacteriostática, contra *S mutans*, do NaHCO₃ sozinho (concentrações de 0,2 a 10%) e combinado com SDS (0,0125%). Os autores observaram que a ação bactericida ocorreu somente com a combinação das duas substâncias, estando o bicarbonato a concentração maior ou igual a 3%. Nenhuma morte foi observada com bicarbonato sozinho, entretanto, significativa inibição do crescimento ocorreu com NaHCO₃ a concentrações de 5% ou superiores. Os resultados sugeriram que NaHCO₃ em combinação com SDS pode causar rápida morte de *S.mutans*, mas somente a concentrações maior ou igual a 3%, e que NaHCO₃ sozinho exerce significativa atividade bacteriostática a concentrações de 5 a 10%.

A revisão da literatura apresentada não foi conclusiva quanto ao efeito ou aos possíveis mecanismos de ação do bicarbonato de sódio nos diversos fatores que envolvem o desenvolvimento da cárie dental. Os produtos testados apresentam variabilidade nas concentrações de bicarbonato de sódio; existem poucos dados a respeito do efeito do bicarbonato na composição da placa dental (conteúdo de flúor e polissacarídeos insolúveis), parte dos métodos utilizados avaliaram o efeito imediato do seu uso, não existindo ainda estudos que tenham verificado se a adição de bicarbonato a uma formulação já contendo uma substância alcalinizante, como o carbonato de cálcio, resulta em algum benefício. Na ausência da elucidação desses fatos, propusemo-nos a realizar este estudo.

3 - PROPOSIÇÃO

OBJETIVO GERAL

Estudar clinicamente o efeito de um dentifício fluoretado contendo CaCO_3 e bicarbonato de sódio nos diversos fatores relacionados ao desenvolvimento da cárie dental, comparado a formulações contendo CaCO_3 ou sílica como abrasivo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Avaliar a capacidade do dentifício em reduzir a contagem de estreptococos do grupo mutans na saliva;

-Avaliar a capacidade do dentifício em reduzir a contagem de estreptococos do grupo mutans na placa dental;

-Avaliar a capacidade do dentifício em reduzir a acidogenicidade da placa dental, na ausência ou presença de desafio cariogênico;

-Avaliar a capacidade do dentifício em reduzir o conteúdo de polissacarídeos extracelulares na placa dental, e

-Avaliar a capacidade do dentifício em modificar a concentração de flúor na placa dental.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 VOLUNTÁRIOS

Vinte e três indivíduos adultos, residentes em Piracicaba (região de água fluoretada a 0,7 ppm F), com idade entre 15 e 46 anos ($24,9 \pm 6,5$), com no mínimo 20 dentes, em bom estado de saúde geral e bucal e com história anterior de cárie, participaram do estudo. Após esclarecimento sobre o desenvolvimento das diferentes etapas do experimento, os mesmos assinaram termo de consentimento (Anexo I), autorizando sua participação no estudo. Os voluntários receberam orientação, por escrito, dos cuidados a serem observados durante todo o experimento (Anexos II e III). Antes do início do experimento os voluntários passaram por um período pré-experimental de 10 dias, no qual foi utilizado o dentífrico contendo sílica como abrasivo.

4.2 DENTIFRÍCIOS

Os dentífricos testados, fornecidos pela Kolynos do Brasil Ltda. em bisnagas laminadas codificadas, tinham a composição apresentada no quadro a seguir :

Quadro 1 - Composição dos dentífricos usados no experimento

COMPOSIÇÃO	DENTIFRÍCIOS		
	A	B	C
ppm F (MFP)	1500	1500	1500
NaHCO ₃	-	-	14%
Abrasivo	sílica	CaCO ₃	CaCO ₃

As escovas dentais foram trocadas a cada cruzamento.

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os voluntários, divididos em 3 grupos (o primeiro com 8, o segundo com 8 e o terceiro com 7 indivíduos - denominados G_1 , G_2 e G_3 , respectivamente) foram submetidos aos diferentes tratamentos, num delineamento experimental do tipo duplo cego cruzado. Os dentifrícios foram codificados aleatoriamente, sem que pesquisadores ou voluntários soubessem o tipo de dentifrício testado e foram usados de forma alternada, por todos os grupos, de forma que cada voluntário foi controle de si mesmo.

O estudo foi realizado em 3 períodos de 30 dias, sendo que os voluntários compareceram para coleta de material e medida do pH de placa no 28º e 30º dia. Entre cada período de 30 dias foi dado um intervalo de uma semana, no qual foi usado o dentifrício contendo sílica como abrasivo (dentifrício codificado como "A"), com a finalidade de eliminar possíveis interferências de um tratamento sobre o outro. O quadro abaixo indica o delineamento realizado :

Quadro 2- Delineamento Experimental

GRUPO	Nº VOLUNT.	TRATAMENTOS		
		1º. CRUZ. (set./out.)	2º. CRUZ. (out./nov.)	3º. CRUZ. (nov./dez.)
G_1	08	A	B	C
G_2	08	B	C	A
G_3	07	C	A	B

4.4 ENSAIOS REALIZADOS

Para avaliar a ação anti-cárie dos dentifrícios testados, foram realizados os seguintes ensaios :

- contagem do número de estreptococos do grupo mutans na saliva;
- contagem do número de estreptococos do grupo mutans na placa ;
- acidogenicidade de placa (no tempo zero e 5 minutos após bochecho com sacarose a 10%);
- determinação da concentração de polissacarídeo solúvel em álcali na placa;
- determinação da concentração de flúor solúvel em ácido na placa e
- capacidade tampão *in vitro* dos dentifrícios.

4.5 COLETA DAS AMOSTRAS

4.5.1 Saliva

No 28º dia de cada cruzamento, com o voluntário em jejum e sem ter escovado os dentes (8 a 10 horas após a última escovação), foi realizada a coleta de saliva no Laboratório de Bioquímica Oral da FOP - UNICAMP. O voluntário foi orientado a permanecer sentado durante a coleta e a mastigar um pedaço de goma base (de 1,5 g) para estimular a formação de saliva, por um período de 3 minutos. A saliva produzida foi coletada, com o auxílio de um funil de plástico esterilizado, num tubo de ensaio de tampa rosqueável de 10 mL contendo pérolas de vidro, também esterilizado, identificado apenas com o número do voluntário. A amostra foi mantida à temperatura de 4°C até o seu processamento, que ocorreu no máximo em 4 horas.

4.5.2 Placa Bacteriana

No 28º dia do cruzamento, após a coleta de saliva, a escovação dos dentes foi interrompida por 2 dias. Nesse período os voluntários bochecharam solução de sacarose a 10%, seis vezes ao dia, por 1 minuto, para estimular a formação de placa. O dentifício usado no cruzamento foi preparado na forma de suspensão (1 parte de dentifício para 3 partes de água) e bochechado 3 vezes ao dia, também por 1 minuto, após as principais refeições.

No 30º dia, após 48 horas sem escovar os dentes, no período da manhã e com o voluntário em jejum (10 a 12 horas após o último bochecho), foi realizada a coleta de placa dental no Laboratório de Bioquímica Oral da FOP-UNICAMP, pelo cirurgião dentista Paulo Edelvar Corrêa Peres. O material foi coletado no lado esquerdo do paciente, na região interproximal, faces vestibular e lingual das coroas, tanto na maxila quanto na mandíbula, de forma a caracterizar uma amostra representativa dos diversos sítios da cavidade bucal. A coleta foi feita com o auxílio de uma espátula tipo BENETH esterilizada.

A placa coletada para contagem microbiana foi depositada num fragmento de papel alumínio esterilizado, previamente pesado em balança analítica (modelo OHAUS Analytical Plus AP 250 D) e colocada no interior de uma placa de Petri também esterilizada, contendo gaze umedecida. O material foi imediatamente pesado, para determinação do peso úmido da placa. Após a pesagem, o papel alumínio com a placa bacteriana foi transferido, em zona asséptica, para um tubo de ensaio de tampa rosqueável esterilizado, contendo pérolas de vidro. Ao tubo foi adicionado tampão PBS (Anexo IV), na proporção de 1 mL de tampão para cada mg de placa, agitado por 1 minuto no agitador MARCONI PA 162 e colocado em banho de ultrassom (THORNTON T 7/50-60Hz/50

watts potência) também por 1 minuto. O material foi mantido à temperatura de 4°C até o seu processamento, que ocorreu no período máximo de 4 horas.

A placa coletada para as dosagens bioquímicas foi colocada no interior de um tubo de eppendorf de 1,5 mL esterilizado, previamente pesado. Após nova pesagem do tubo, para determinação do peso úmido da placa, o mesmo foi congelado até o seu processamento.

4.6 CONTAGEM DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO MUTANS

4.6.1 Na Saliva

A saliva coletada foi agitada por 30 segundos, sendo diluída, em zona asséptica, 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 e 10^5 vezes, de forma seriada, em tampão PBS (0,5 mL de saliva em 4,5 mL de tampão, transferida com pipeta de vidro esterilizada e homogeneizada por aspiração). Usando-se pipeta automática, 50,0 μ L de cada diluição foram semeados em placas de petri contendo 5,0 mL de meio Mitis Salivarius Bacitracina - MSB (Anexo IV), e homogeneizados em toda extensão da placa, com auxílio de uma alça de Drigalski. As placas semeadas, devidamente identificadas, foram incubadas em estufa com atmosfera de 10% de PCO_2 (Estufa JOUAN IG 150), a 37°C por 48 horas. Após o período de incubação, as placas com crescimento entre 30 e 300 Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) foram contadas no Contador de Colônias PHOENIX CP 600. As espécies bacterianas foram identificadas com base na morfologia das colônias e os resultados foram expressos em número de UFCs x 10^6 por mL de saliva. Em caso de dúvida quanto à identificação dos estreptococos do grupo mutans, foram realizados testes bioquímicos de

fermentação de açúcares (sorbitol, manitol, rafinose e melibiose) e hidrólise da arginina, segundo **HAMADA & SLADE 1980**.

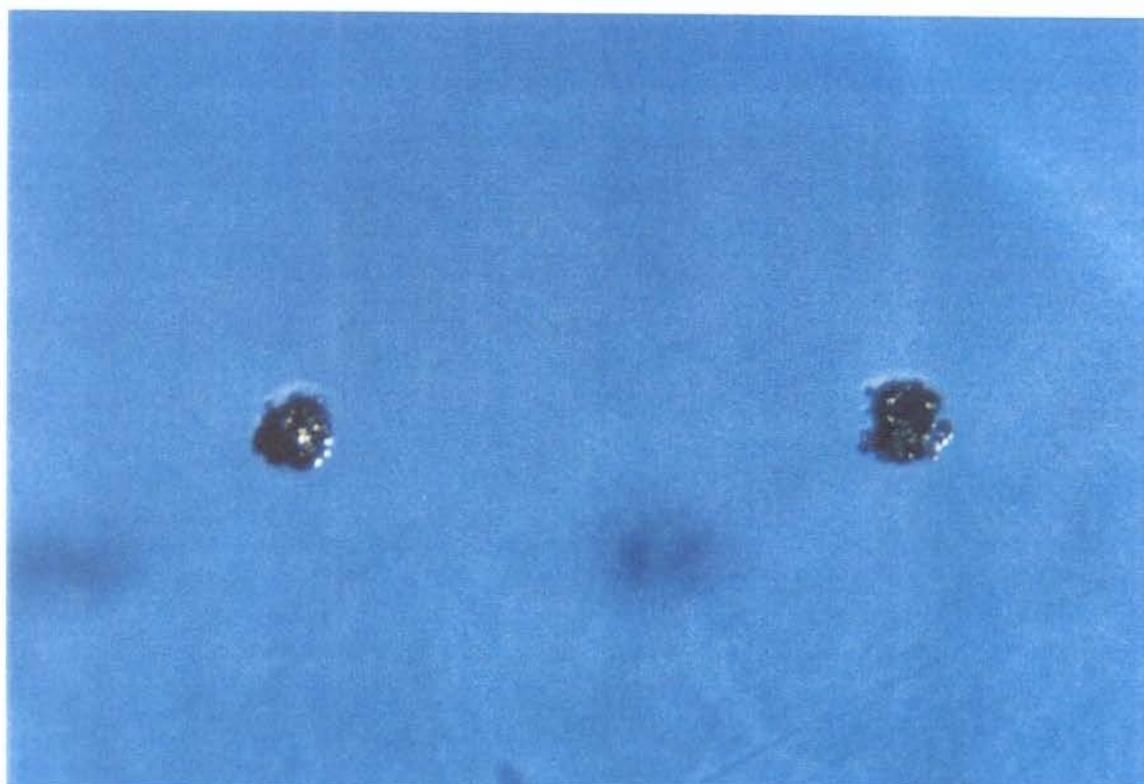


Figura 1 - UFC de estreptococos do grupo mutans em meio MSB

4.6.2 Na Placa Bacteriana

O tubo de ensaio contendo a placa coletada e tampão PBS passou pelo processo de diluição seriada, partindo-se da diluição “zero” (a obtida da homogeneização

da placa coletada em tampão PBS) até a 10^4 , semeadas em meio MSB. Os procedimentos técnicos foram os mesmos utilizados para saliva e os resultados foram expressos em número de UFCs x 10^6 por mg de placa (peso úmido).

4.7 ACIDOGENICIDADE *IN VIVO* DA PLACA

A medição do pH de placa foi realizada no 30º dia de cada cruzamento, após a coleta de placa, pelo cirurgião dentista Paulo Edelvar Corrêa Peres, no Laboratório de Bioquímica Oral. Usou-se um microeletrodo de paládio (Marca MEPH3 DENTAL BEETRODE) devidamente calibrado e acoplado a um Potenciômetro (PROCYON SA 720), inserido no espaço interproximal dos dentes pré molares, no lado oposto ao da coleta da placa.



Figura 2: Medição do pH de placa interproximal com microeletrodo

A medição foi feita na maxila e na mandíbula, no tempo zero (T_0) e 5 minutos (T_5) após os voluntários terem bochechado por 1 minuto uma solução de sacarose a 10 %.

4.8 DOSAGENS BIOQUÍMICAS

Para as dosagens de polissacarídeo álcali solúvel e de flúor solúvel em ácido, a extração dos constituintes da placa dental foi realizada adicionando-se à placa pré pesada HCl 0,5 M na proporção de 0,1 mL ácido/mg de placa (peso úmido). Após agitação (agitador MARCONI PA 162), o tubo de eppendorf contendo a placa e o ácido foi colocado em banho de ultrassom (THORNTON T7) por 2 minutos e depois, em agitação à temperatura ambiente, por 3 horas. A seguir, o tubo foi centrifugado por 2 minutos em centrífuga Incibras Spin 1. O sobrenadante, transferido para outro tubo, foi neutralizado com TISAB/NaOH (Anexo IV), na proporção de 0,1 mL de TISAB/NaOH por mg de placa, sendo então realizada a dosagem de flúor. Ao precipitado foi adicionado NaOH M, na proporção de 0,1 mL/mg de placa, sendo então colocado em agitação por 3 horas à temperatura ambiente. Decorridas as 3 horas, o material foi centrifugado e o sobrenadante foi utilizado para dosagem de carboidrato solúvel em álcali. O fluxograma a seguir (Figura 3) resume passo a passo a metodologia .

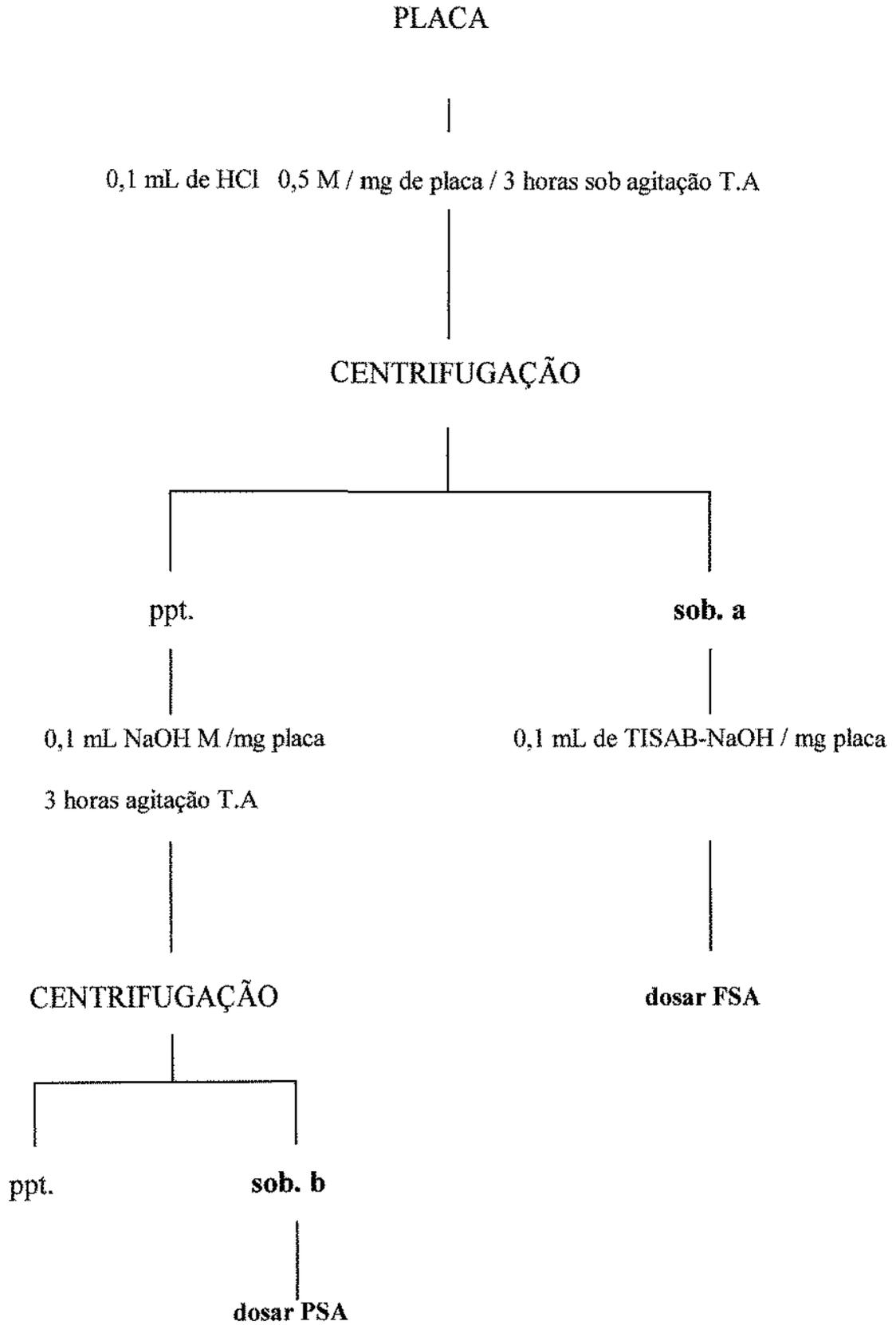


Figura 3 - Fluxograma de extração dos constituintes da placa

4.8.1 Dosagem de Flúor Solúvel em Ácido

A dosagem de flúor solúvel em ácido foi realizada segundo **NOBRE DOS SANTOS & CURY, 1988**. O volume total do sobrenadante a (Figura 3), neutralizado com TISAB-NaOH, foi lido no Potenciômetro ORION RESEARCH EA 940 com eletrodo específico para fluoreto ORION 9609 BN. Após obtenção de uma curva padrão (valores de 0,025 a 0,5 ppm F), por regressão linear de Log F x mV absoluto, os valores das leituras em mV foram transpostos na curva, transformados em μgF , que dividido pelo peso da placa, forneceu a concentração de flúor na placa em $\mu\text{gF/g}$ de placa (peso úmido).

4.8.2 Dosagem de Polissacarídeo Solúvel em Alkali

Os polissacarídeos foram dosados segundo a metodologia de **DUBOIS *et al.* 1956** que se baseia na propriedade que polissacarídeos e açúcares simples têm de produzir uma cor amarelo alaranjada quando tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrado. A intensidade da cor produzida é proporcional à concentração do açúcar, podendo ser medida, a partir de um padrão de concentração conhecida, por espectrofotometria.

Um volume de 0,2 mL do sobrenadante b (Figura 3) foi transferido, em duplicata, a um tubo de ensaio, sendo adicionado de 0,3 mL de água destilada, 0,5 mL de fenol a 5% e 2,5 mL de H_2SO_4 concentrado Merck®. Após 20 minutos, os padrões (concentrações de 20 a 100 $\mu\text{g/mL}$ de glucose) e as amostras foram lidos a 490 nm no Espectrofotômetro BECKMAN DU 70. Por regressão linear dos valores de Densidade Óptica versus Concentração, os resultados foram fornecidos em μg polissacarídeo/mL, sendo transformados em μg polissacarídeo/mg de placa, obtendo-se as médias das

concentrações dos tubos em duplicata, corrigidas pelo fator de diluição do sobrenadante no tubo.

4.9 CAPACIDADE TAMPÃO *IN VITRO* DOS DENTIFRÍCIOS

A capacidade tampão dos dentifrícios foi determinada através de titulação dos dentifrícios com HCl 1,0 M, usando-se azul de bromofenol como indicador (cor amarela em pH 3,0). Um Potenciômetro PROCYON® mod. PHIE 800 com eletrodo de pH PROCYON® acoplado, foi devidamente calibrado com tampões de pH 4,0 e 7,0 e usado para determinar o pH inicial dos dentifrícios. Foram utilizados 3 tubos para cada tipo de dentifrício e de cada tubo de dentifrício foram preparadas 2 suspensões, na proporção 1:3 (3,0 g dentifrício + 9,0 mL de água destilada). Uma das 2 suspensões foi centrifugada a 12.000 g por 20 min. na centrífuga BECKMAN® J2-21, sendo analisado o sobrenadante. A outra foi analisada diretamente (na forma de suspensão). Em ambos os casos, suspensão do dentifrício ou sobrenadante, adicionou-se 2 gotas de octanol para evitar a formação de espuma.

Em cada determinação, foram anotados o valor inicial de pH (antes da adição de HCl) e o volume de ácido necessário para a viragem do indicador.

5. RESULTADOS

5.1 Contagem de Estreptococos do Grupo Mutans em Saliva

Os resultados referentes à contagem de estreptococos do grupo mutans presentes na saliva, após o uso dos dentifícios, estão apresentados na Tabela 1. A análise estatística através do Teste de Normalidade de Shapiro-Wilks constatou a não normalidade dos dados. Empregou-se o processo não-paramétrico para efetuar a Análise de Variância, em um nível de significância de 5%, e a seguir foram feitas comparações múltiplas, através do Método de Contraste. Uma vez que no processo não paramétrico o que se utiliza é a ordem dos dados na amostra, as médias são apresentadas apenas para facilitar a visualização dos resultados.

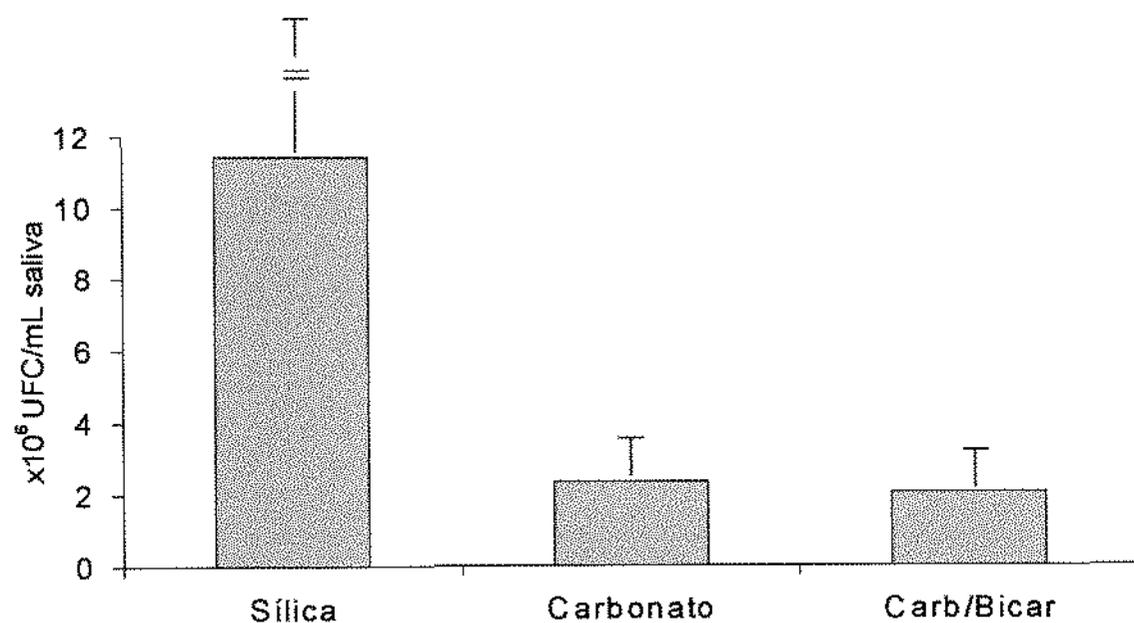
Apesar do dentifício fluoretado contendo bicarbonato de sódio e carbonato de cálcio (CARB/BICAR) ter apresentado a menor média de contagem microbiana ($2,07 \pm 1,10 \times 10^6$ UFC/mL saliva), observa-se que não há diferença estatística, em um nível de 5% de significância, do dentifício fluoretado contendo apenas carbonato de cálcio (CARBONATO) que apresentou média de $2,33 \pm 1,04 \times 10^6$ UFC/mL saliva, ou do dentifício fluoretado contendo sílica como abrasivo (SÍLICA) que apresentou valores de $11,43 \pm 7,62 \times 10^6$ UFC/mL saliva. Igualmente, observa-se que não há diferença significativa (a um nível de 5% de confiança) entre o dentifício com carbonato de cálcio e o dentifício contendo sílica como abrasivo.

Tabela 1 - Média e Erro Padrão do número de estreptococos do grupo mutans ($\times 10^6$ UFC/mL de saliva), após o tratamento com os dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e carbonato de cálcio mais bicarbonato de sódio (CARB/BICAR).

DENTIFRÍCIOS	$\times 10^6$ UFC/mL SALIVA
SÍLICA	$11,43 \pm 7,62$ a
CARBONATO	$2,33 \pm 1,04$ a
CARB/BICAR	$2,07 \pm 1,10$ a

* Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si ao nível de 5% de significância

Gráfico 1 - Média e Erro Padrão do número de estreptococos do grupo mutans ($\times 10^6$ UFC por mL de Saliva), após os diferentes tratamentos



5.2 Contagem de Estreptococos do Grupo Mutans na Placa Dental

Os resultados referentes à contagem de estreptococos do grupo mutans presentes na placa após o uso dos dentifrícios estão apresentados na Tabela 2. A análise estatística foi realizada da mesma forma que os dados de contagem microbiana na saliva.

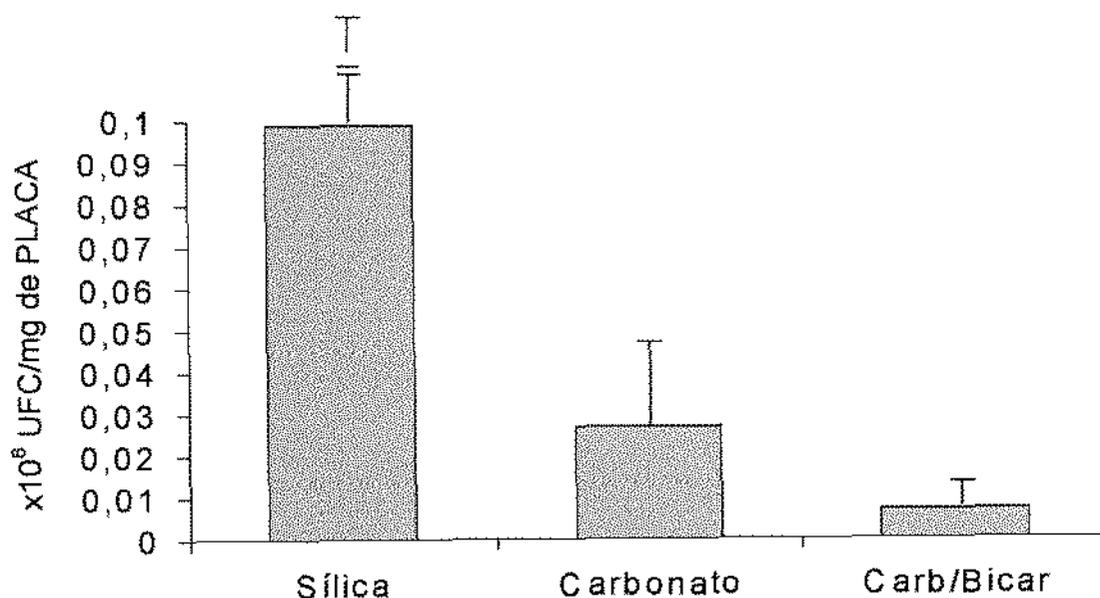
Apesar do dentifrício fluoretado contendo bicarbonato de sódio e carbonato de cálcio (CARB/BICAR) ter apresentado a menor média de contagem microbiana ($0,007 \pm 0,003 \times 10^6$ UFC/mg placa), observa-se que não há diferença estatística, em um nível de 5% de significância, do dentifrício fluoretado contendo apenas carbonato de cálcio (CARBONATO) que apresentou média de $0,027 \pm 0,018 \times 10^6$ UFC/mg placa, ou do dentifrício fluoretado contendo sílica como abrasivo (SÍLICA) que apresentou valores de $0,099 \pm 0,095 \times 10^6$ UFC/mg placa). Igualmente, observa-se que não há diferença significativa (nível de 5% de confiança) entre o dentifrício com carbonato de cálcio e o dentifrício contendo sílica como abrasivo.

Tabela 2 - Média e Erro Padrão do número de estreptococos do grupo mutans ($\times 10^6$ UFC/mg de placa), após o tratamento com os dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e carbonato de cálcio mais bicarbonato de sódio (CARB/BICAR).

DENTIFRÍCIOS	$\times 10^6$ UFC/mg PLACA
SÍLICA	$0,099 \pm 0,095$ a
CARBONATO	$0,027 \pm 0,018$ a
CARB/BICAR	$0,007 \pm 0,003$ a

* Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si ao nível de 5% de significância

Gráfico 2- Média e Erro Padrão do número de estreptococos do grupo mutans ($\times 10^6$ UFC por mg de Placa), após os diferentes tratamentos.



5.3 Acidogenicidade *In Vivo* da Placa Dental

Através do Teste de Normalidade de Shapiro-Wilks, pôde-se admitir normalidade dos dados para acidogenicidade nos tempos T_0 , T_5 e $\Delta (T_0 - T_5)$. Realizou-se então a Análise de Variância ao nível de 5% de significância e o Teste de Tukey para comparações múltiplas.

Com a Análise de Variância observa-se não haver diferença entre qualquer dos dentifrícios nos tempos T_0 , T_5 ou $\Delta (T_0 - T_5)$, assim como quando se utiliza o Teste de Tukey, o que é demonstrado pelas Tabelas 3, 4 e 5 e seus respectivos gráficos.

Tabela 3 - Média e Erro Padrão dos valores de pH de placa no T₀, após o tratamento com os dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e carbonato de cálcio mais bicarbonato de sódio (CARB/BICAR).

DENTIFRÍCIOS	pH de PLACA T ₀
SÍLICA	6,72 ± 0,12 a
CARBONATO	6,88 ± 0,13 a
CARB/BICAR	6,65 ± 0,11 a

* Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si ao nível de 5% de significância

Gráfico 3 - Média e Erro Padrão dos valores de pH de Placa no T₀, após os diferentes tratamentos.

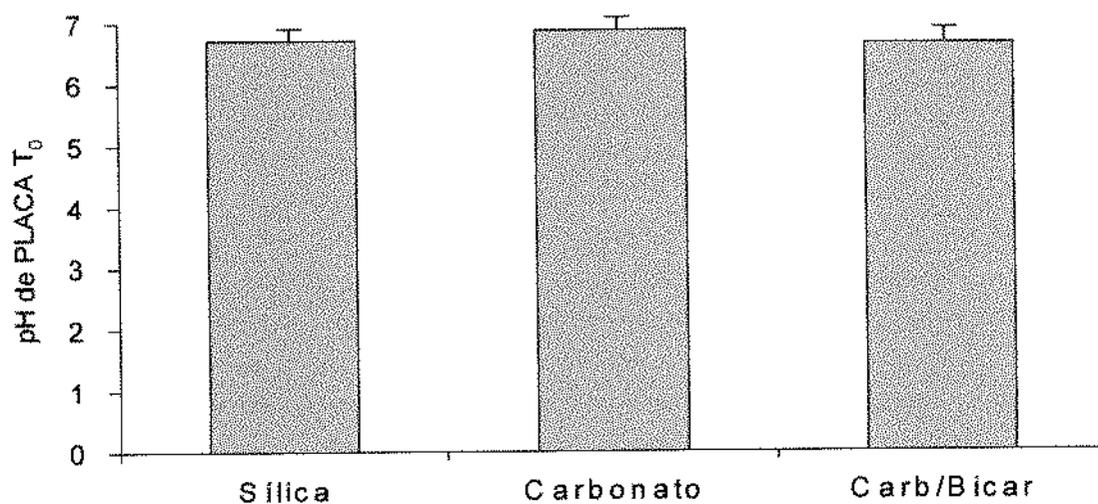


Tabela 4 - Média e Erro Padrão dos valores de pH de placa no T₅, após o tratamento com os dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e carbonato de cálcio mais bicarbonato de sódio (CARB/BICAR).

DENTIFRÍCIOS	pH de PLACA T ₅
SÍLICA	5,61 ± 0,13 a
CARBONATO	5,71 ± 0,13 a
CARB/BICAR	5,70 ± 0,12 a

* Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si ao nível de 5% de significância

Gráfico 4 - Média e Erro Padrão dos valores de pH de Placa no T₅, após os diferentes tratamentos.

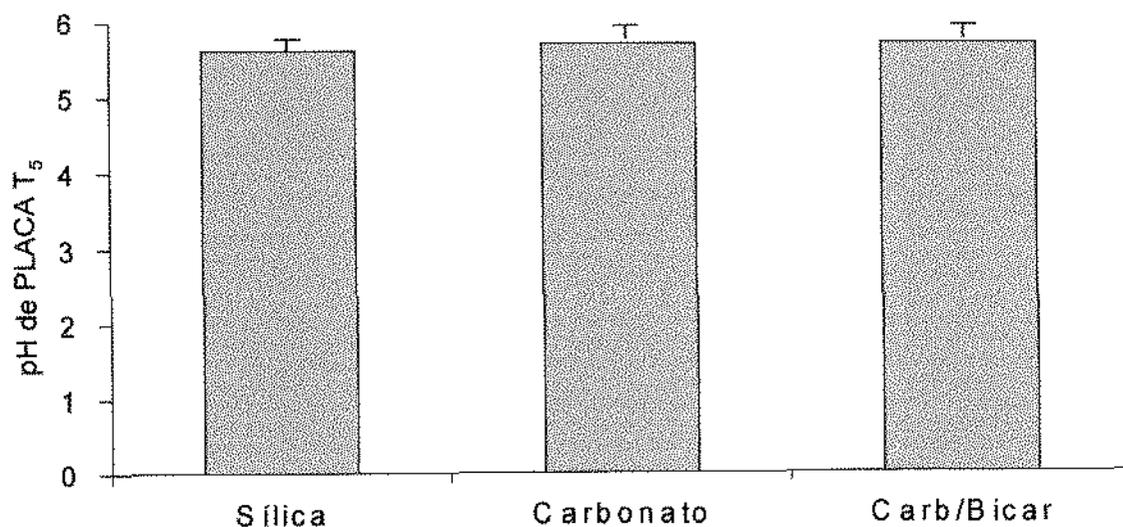
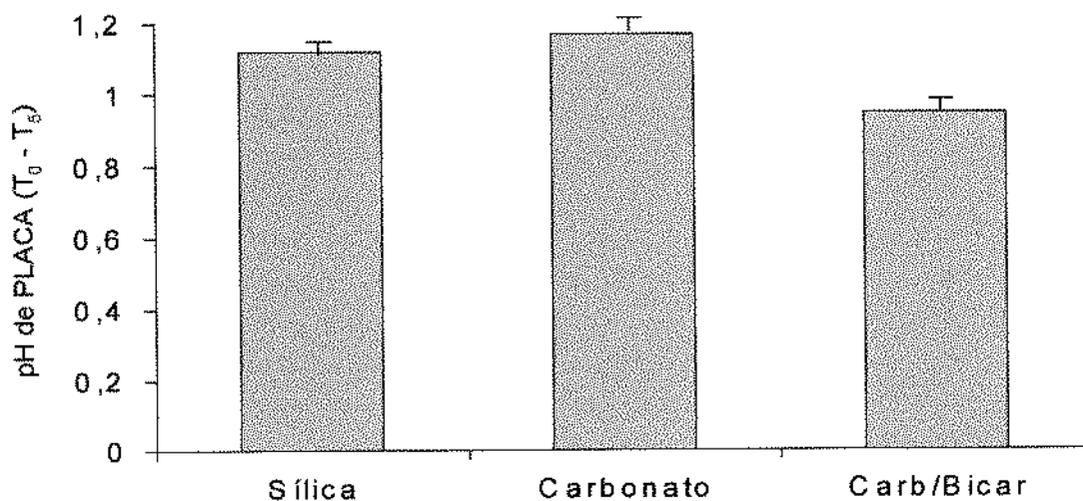


Tabela 5 - Média e Erro Padrão dos valores de Δ pH placa ($T_0 - T_5$), após o tratamento com os dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e carbonato de cálcio mais bicarbonato de sódio (CARB/BICAR).

DENTIFRÍCIOS	Δ pH de PLACA
SÍLICA	1,12 \pm 0,11 a
CARBONATO	1,17 \pm 0,11 a
CARB/BICAR	0,95 \pm 0,10 a

* Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si ao nível de 5% de significância

Gráfico 5 - Média e Erro Padrão dos valores de Δ pH de Placa ($T_0 - T_5$), após os diferentes tratamentos.



5.4 Concentração de Polissacarídeos Álcali-Solúveis na Placa Dental

Em função da não normalidade dos dados, constatada pela aplicação do Teste de Shapiro-Wilks, os resultados da concentração de polissacarídeos álcali-solúveis foram transformados logaritmicamente e a seguir utilizou-se o processo paramétrico para efetuar a Análise de Variância a um nível de 5% de confiança.

A utilização do Teste de Tukey permitiu a comparação dos dados de forma múltipla. Observa-se que o dentifício contendo bicarbonato de sódio mais carbonato de cálcio (CARB/BICAR) apresentou a menor concentração de polissacarídeos insolúveis, ou seja, $6,11 \pm 0,59$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ placa. Essa diferença é significativa quando CARB/BICAR é comparado ao dentifício contendo apenas carbonato de cálcio (CARBONATO), que apresentou valores de $8,46 \pm 0,80$ μg polissacarídeo/ mg placa, mas não é significativa quando comparado ao dentifício contendo sílica (SÍLICA), que apresentou valores de $6,89 \pm 0,62$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ placa. Não há diferença entre o dentifício contendo sílica e o dentifício contendo carbonato de cálcio, a um nível de 5% de significância.

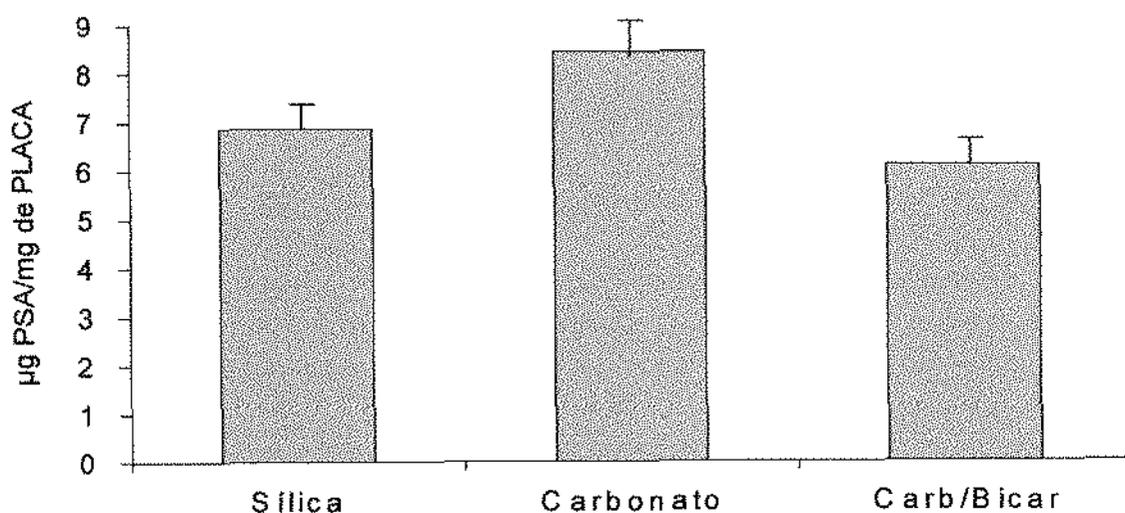
Os resultados são apresentados a seguir.

Tabela 6 - Média e Erro Padrão da concentração de polissacarídeos álcali solúveis na placa dental (em $\mu\text{g}/\text{mg}$), após o tratamento com os dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e carbonato de cálcio mais bicarbonato de sódio (CARB/BICAR).

DENTIFRÍCIOS	$\mu\text{g PSA}/\text{mg PLACA}$
SÍLICA	$6,89 \pm 0,62$ ac
CARBONATO	$8,46 \pm 0,80$ ab
CARB/BICAR	$6,11 \pm 0,59$ c

* Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si ao nível de 5% de significância

Gráfico 6 - Média e Erro Padrão da concentração de polissacarídeo insolúvel ($\mu\text{g}/\text{mg}$), após os diferentes tratamentos.



5.5 Concentração de Flúor na Placa Dental

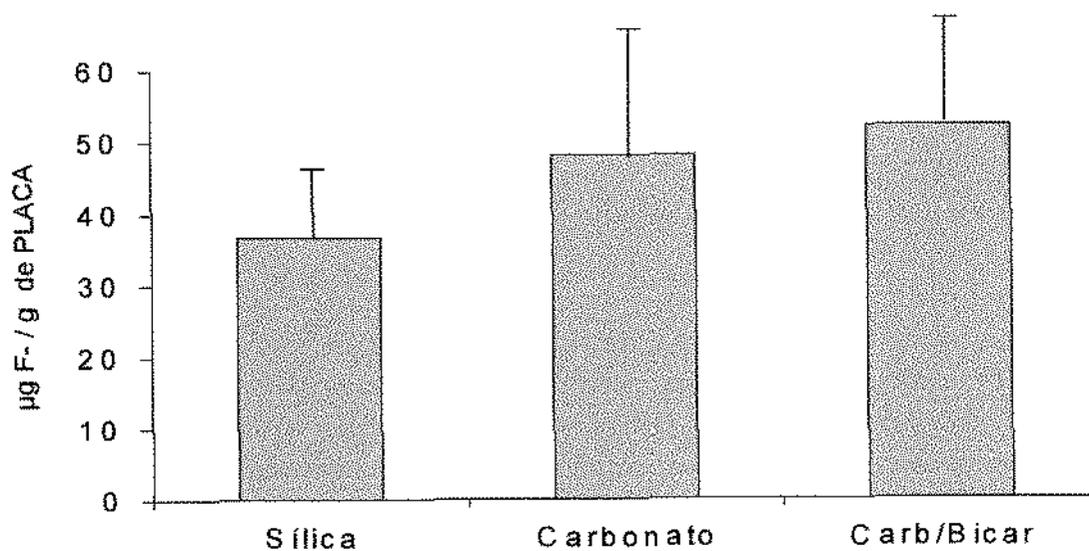
Os resultados da concentração de flúor solúvel em ácido na placa dental foram normalizados através de transformação logarítmica, sendo utilizado o processo paramétrico para efetuar a Análise de Variância, realizada a um nível de 5% de significância, e o Teste de Tukey para comparações múltiplas. Apesar do dentifício contendo bicarbonato de sódio mais carbonato de cálcio (CARB/BICAR) promover a maior concentração de flúor solúvel em ácido na placa ($52,21 \pm 15,12 \mu\text{g F/g placa}$), não diferiu significativamente dos dentifícios contendo sílica (SÍLICA), que apresentou valores de $36,67 \pm 10,10 \mu\text{g/g}$ ou apenas carbonato de cálcio (CARBONATO), com $48,12 \pm 19,23 \mu\text{g/g}$, conforme ilustrado a seguir (Tabela e Gráfico 7). Da mesma forma, observa-se não haver diferença entre o dentifício contendo sílica e o dentifício contendo carbonato de cálcio, a um nível de 5% de significância.

Tabela 7 - Média e Erro Padrão da concentração de Flúor solúvel em ácido na placa dental (em $\mu\text{g F/g placa}$), após o tratamento com os dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e carbonato de cálcio mais bicarbonato de sódio (CARB/BICAR).

DENTIFRÍCIOS	$\mu\text{g FSA/g PLACA}$
SÍLICA	$36,67 \pm 10,10$ a
CARBONATO	$48,12 \pm 19,23$ a
CARB/BICAR	$52,21 \pm 15,12$ a

* Médias seguidas por letras distintas, diferem entre si ao nível de 5% de significância

Gráfico 7 - Média e Erro Padrão da concentração de flúor solúvel em ácido ($\mu\text{g/g}$), após os diferentes tratamentos.



5.6 Capacidade Tampão *In Vitro* dos Dentifrícios

A Tabela 8 apresenta os dados obtidos da determinação do pH inicial e capacidade tampão dos dentifrícios em suspensão, e a Tabela 9 da determinação realizada após centrifugação da suspensão (do sobrenadante).

Observa-se que o dentifício com maior capacidade tampão é o dentifício contendo bicarbonato de sódio e carbonato de cálcio (CARB/BICAR), tanto para o dentifício em suspensão (pH inicial igual a $8,5 \pm 0,11$ e $24,6 \pm 0,2$ mL de HCl 1,0 M gastos na titulação) quanto para o sobrenadante da suspensão (pH inicial igual a $8,73 \pm 0,18$ e $4,6 \pm 0,1$ mL de HCl 1,0 M gastos na titulação), quando comparado ao dentifício contendo apenas carbonato de cálcio (CARBONATO) com pH inicial de $9,48 \pm 0,14$ e $22,9 \pm 0,3$ mL de HCl 1,0 M para suspensão do dentifício, e pH de $9,21 \pm 0,13$ e $0,4 \pm 0,1$ mL de HCl 1,0 M para sobrenadante da suspensão. O dentifício contendo sílica possui praticamente nenhuma capacidade tampão, com valores de pH inicial igual a $6,75 \pm 0,07$ e $0,3 \pm 0,1$ mL de volume gasto de HCl 1,0 M, para dentifício em suspensão, e pH inicial de $6,75 \pm 0,14$ e $0,3 \pm 0,1$ mL de HCl 1,0 M para sobrenadante. Comparando-se os dados da Tabela 8 com os dados da Tabela 9, pode-se constatar que a capacidade tampão do dentifício com carbonato de cálcio é muito maior quando a determinação é feita com a suspensão do dentifício do que quando se usa o seu sobrenadante. O mesmo pode ser dito do dentifício contendo bicarbonato de sódio e carbonato de cálcio, ou seja, a capacidade tampão do dentifício encontra-se reduzida quando se analisa apenas o sobrenadante da suspensão.

A discussão destes resultados deve considerar a fraca solubilidade do carbonato de cálcio em água, em oposição à alta solubilidade do bicarbonato de sódio.

Tabela 8 - Média e Desvio Padrão dos valores de pH e de volume de HCl 1,0 M utilizado na titulação, obtidos dos dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e bicarbonato de sódio mais carbonato de cálcio (CARB/BICAR), em suspensão.

	DENTIFRÍCIO EM SUSPENSÃO		
	SÍLICA	CARBONATO	CARB/BICAR
pH INICIAL	6,75 ± 0,07	9,48 ± 0,14	8,50 ± 0,11
VOL. HCl 1,0 M (mL)	0,3 ± 0,1	22,9 ± 0,3	24,6 ± 0,2

Tabela 9 - Média e Desvio Padrão dos valores de pH e de volume de HCl 1,0 M utilizado na titulação, obtidos do sobrenadante dos dentifrícios contendo sílica (SÍLICA), carbonato de cálcio (CARBONATO) e bicarbonato de sódio mais carbonato de cálcio (CARB/BICAR).

	SOBRENADANTE DENTIFRÍCIO		
	SÍLICA	CARBONATO	CARB/BICAR
pH INICIAL	6,75 ± 0,14	9,21 ± 0,13	8,73 ± 0,18
VOL. HCl 1,0 M (mL)	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	4,6 ± 0,1

6. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou clinicamente a ação de um dentifício contendo carbonato de cálcio como abrasivo e adicionado de bicarbonato de sódio, em diversos fatores que afetam o desenvolvimento da cárie dental, comparando com dentifícios contendo sílica ou carbonato de cálcio como abrasivos.

Os parâmetros avaliados foram a capacidade de redução do número de estreptococos do grupo mutans, a acidogenicidade mediante desafio cariogênico, a formação de polissacarídeos insolúveis e a concentração de flúor na placa dental.

Apesar de haver uma tendência do dentifício contendo bicarbonato de sódio em reduzir a contagem dos estreptococos do grupo mutans, quando comparado às outras formulações, os resultados encontrados para contagem na saliva e placa dental (tabelas 1 e 2) mostram não haver diferença significativa entre os tratamentos SÍLICA, CARBONATO e CARB/BICAR. Estes resultados divergem dos trabalhos existentes na literatura que demonstraram uma ação antimicrobiana, *in vitro*, do bicarbonato contra os estreptococos do grupo mutans (POLLOCK *et al.* 1981, POLLOCK *et al.* 1983, POLLOCK *et al.* 1984, NEWBRUN *et al.* 1984, SRIKANTHA *et al.* 1995, NELSON & LI 1996, MEIER & DRAKE 1997). Contudo, os resultados obtidos nesses estudos devem ser vistos com reserva, uma vez que os modelos experimentais utilizados não refletem o que ocorre na cavidade bucal, são estáticos, não possuindo a dinâmica dos fluídos orais. Por outro lado, mesmo os estudos realizados em animais mostraram resultados discordantes. POLLOCK *et al.* 1984 observaram o efeito do bicarbonato (dado na água de beber) na redução de *S.mutans* em ratos, quando comparado a outros sais e TANZER *et al.* 1987 verificaram a redução da contagem de microrganismos

cariogênicos usando um pó dental fluoretado com 96,18% de NaHCO_3 , aplicado topicamente, comparado a uma solução de NaF nas mesmas concentrações que uma suspensão do pó dental. Já GRANT *et al.* 1989 e TANZER *et al.* 1990a, verificaram não haver diferença significativa na redução da contagem de *S.sobrinus* ou de *S.mutans* entre a aplicação tópica de um dentífrico fluoretado convencional, formulações a base de NaHCO_3 (com ou sem flúor) e água desmineralizada.

LEGIER-VARGAS *et al.* 1995, no único estudo clínico realizado com o propósito de avaliar a redução da contagem de estreptococos do grupo mutans na saliva, comparou dois dentífricos contendo NaHCO_3 (um fluoretado e outro não) com um dentífrico placebo sem bicarbonato e sem flúor, concluindo que os dentífricos contendo bicarbonato de sódio foram melhores que o placebo, não havendo diferença estatística entre eles. A concentração de bicarbonato usada pelos autores em ambos os dentífricos foi de 65%, o que poderia explicar a efetividade dos dentífricos na redução dos microrganismos cariogênicos, e conseqüentemente a diferença dos resultados obtidos, já que a concentração utilizada neste estudo foi de 14%. Outra questão a ser considerada é que, embora a duração de cada cruzamento tenha sido a mesma para ambos os estudos (28 dias), os autores avaliaram o efeito imediato dos dentífricos, pois a coleta de saliva foi realizada por volta de 2 horas após a última escovação, enquanto que o objetivo do presente estudo foi o de avaliar o efeito residual dos dentífricos testados (a última escovação ocorreu na noite anterior à coleta de saliva, 8 a 10 horas antes da coleta). Esse fato sugere que apesar do dentífrico contendo bicarbonato de sódio ser um efetivo tampão *in vitro* (tabelas 8 e 9), sendo solúvel em água é rapidamente eliminado, não permanecendo tempo suficiente na cavidade bucal para exercer o seu efeito antimicrobiano.

Na literatura não há dados de contagem de estreptococos na placa dental, entretanto, além da já discutida falta de substantividade do bicarbonato de sódio, a utilização do bochecho de sacarose 6 vezes ao dia para estimular a formação de placa pode ter produzido ácido em tal quantidade, sobrepujando qualquer efeito alcalinizante do bicarbonato que pudesse resultar numa modificação do predomínio ecológico dos estreptococos do grupo mutans sobre os outros microrganismos da placa.

Finalmente, e de acordo com dados existentes na literatura, houve grande variação entre os voluntários na contagem de estreptococos do grupo mutans na saliva e na placa dental, o que sugere a necessidade de se desenvolverem estudos que utilizem maior número de voluntários a fim de se alcançar um nível de significância estatística dos resultados obtidos nesse estudo.

Com relação à acidogenicidade da placa, os resultados obtidos (tabelas 3, 4 e 5) indicam não haver diferença nos valores de pH da placa dental entre os 3 dentifrícios testados, antes ou depois do bochecho com sacarose, ou seja, a adição de substâncias alcalinizantes como o carbonato de cálcio ou o bicarbonato de sódio não modifica o pH da placa dental, quando comparado a um dentifrício contendo sílica como abrasivo. Esses dados conflitam com aqueles obtidos *in vivo* por DUKE 1986 e por TAHMASSEBI *et al.* 1994, para formulações contendo carbonato de cálcio, e divergem também dos resultados obtidos *in vitro* por MACPHERSON *et al.* 1991 e DAWES 1996, para formulações contendo bicarbonato de sódio. Os estudos clínicos de LUOMA *et al.* 1971, IGARASHI *et al.* 1988, MURPHY *et al.* 1990, NILNER *et al.* 1991, LINGSTROM *et al.* 1992, YASKELL *et al.* 1996 e BANOCZY 1997 verificaram um efeito compensador do bicarbonato de sódio na queda de pH da placa dental após desafio cariogênico. No

presente estudo, o pH no T₀ foi medido após 10 a 12 horas do último bochecho e os resultados indicam não haver efeito residual dos dentifrícios contendo bicarbonato de sódio e/ou carbonato de cálcio sobre o pH de placa, pois os valores iniciais de pH não foram maiores que o do dentifrício a base de sílica, apesar de *in vitro* terem apresentado melhor capacidade tampão (tabelas 8 e 9). Mais uma vez, a ausência de substantividade do NaHCO₃, devido à sua solubilidade, e a magnitude do desafio cariogênico usado para estimular a formação de placa, poderiam explicar os resultados encontrados. Essa teoria pode ser confirmada pelo estudo clínico de **BANOCZY *et al.* 1997**, que obtiveram valores de pH de placa de 8,5, 8,9 e 9,3 imediatamente após o uso de soluções puras de NaHCO₃ a 2, 6 e 8%, respectivamente. Os autores também verificaram que o uso de uma suspensão de dentifrício com F/NaHCO₃ logo após desafio cariogênico com sacarose a 10% causou uma menor queda do pH da placa dental que a suspensão de um dentifrício contendo apenas F⁻. Igualmente, **YASKELL *et al.* 1996**, analisando um dentifrício não fluoretado com altos teores de bicarbonato de sódio num modelo de placa *in situ*, obtiveram valores de pH de placa, após 30 e 60 min. do enxague com o dentifrício em forma de suspensão, de $8,4 \pm 0,1$ e $7,9 \pm 0,1$ respectivamente. Os níveis de NaHCO₃ determinados por HPLC foram relativamente altos nas placas expostas ao bicarbonato e além disso, quando comparado a um dentifrício não fluoretado contendo sílica como abrasivo, o dentifrício de NaHCO₃ promoveu uma maior redução da desmineralização, o que os autores acreditam ser devido à retenção do bicarbonato na matriz da placa, aumentando o seu pH e por meio disso reduzindo a desmineralização. **DAWES 1996** também verificou o efeito compensador do bicarbonato de sódio sobre o pH de placa 20 minutos após o desafio cariogênico. Os demais estudos de pH de placa mencionados avaliaram o efeito tampão imediato de gomas de mascar ou pastilhas contendo bicarbonato de sódio. O trabalho de

NILNER et al. 1991 constatou que o benefício tampão das gomas contendo bicarbonato de sódio é maior que o das gomas placebo, o que sugere um efeito adicional do bicarbonato sobre aquele produzido fisiologicamente pela estimulação do fluxo salivar. Uma vez que os valores de pH no T₀ foram semelhantes para os três dentífrícios testados, seria lógico esperar também não haver diferença nos valores de pH obtidos após o bochecho de sacarose, como de fato ocorreu.

Os resultados obtidos na determinação de polissacarídeos insolúveis na placa dental (tabela 6) mostram que o dentífrício CARB/BICAR promoveu a menor concentração de polissacarídeos insolúveis na placa. Essa concentração foi significativamente menor em relação ao dentífrício CARBONATO mas não em relação ao dentífrício SÍLICA. Não houve diferença significativa entre o dentífrício contendo CaCO₃ e o dentífrício contendo sílica. **BACCA et al. 1996b**, usando um modelo *in situ* de glicólise de placa constatou que o dentífrício Advanced Formula Crest®, contendo 0,243% de NaF foi significativamente mais efetivo em reduzir a glicólise que Mentadent Baking Soda Peróxido® (contendo NaHCO₃/H₂O₂ e 0,243% de NaF). **SAGEL et al. 1996** também estudaram o efeito de um dentífrício contendo NaHCO₃ sobre a glicólise da placa, coletada após até 45 min. da escovação com Mentadent® ou Crest Regular®. A placa tratada apresentou surpreendentemente mesmo nível de glicólise, após um período de latência inicial, que a placa não tratada e os autores concluíram que a inibição enzimática da glicólise é reversível. Analisando o período de latência, eles verificaram que Mentadent® apresentou o menor período de latência. O estudo de **JENKIS 1978**, descreveu a síntese de polissacarídeos pela placa bacteriana e citou que as bactérias da placa ao receberem sacarose podem sintetizar vários tipos de polissacarídeos ou convertê-la em ácidos. Portanto, podemos inferir para placas tratadas com dentífrícios contendo

bicarbonato de sódio, que ao apresentar uma maior atividade glicolítica ou um menor tempo de latência de glicólise, estariam reduzindo as quantidades de sacarose disponíveis para a síntese de polissacarídeos insolúveis, os quais são sintetizados quase que exclusivamente a partir de sacarose. Uma vez que os estudos de **POLLOCK *et al.* 1983** e **POLLOCK *et al.* 1984** relataram a capacidade do bicarbonato de sódio em promover a lise bacteriana, uma outra questão a ser considerada seria a possibilidade do processo de lise (ocorrido durante o curto período em que o bicarbonato exerceu seu efeito na placa) ter interferido com a síntese de polissacarídeos insolúveis, já que a enzima responsável pela sua produção, a glucosiltransferase, é uma enzima de membrana (**LOESCHE, 1993b**). Estas teorias poderiam dar suporte aos resultados encontrados no presente estudo, de uma menor concentração de polissacarídeos insolúveis na placa tratada com o dentifício contendo bicarbonato de sódio, apesar de não haver diferença significativa deste dentifício com o dentifício contendo sílica. O estudo de **HASHIZUME *et al.* 1996** igualmente mostrou não haver diferença na concentração de polissacarídeos insolúveis na placa, para dentifícios fluoretados contendo ou não NaHCO_3 , tendo sílica como abrasivo.

Com relação à concentração de flúor solúvel em ácido na placa dental, os resultados demonstraram que apesar do dentifício CARB/BICAR ter apresentado uma maior concentração de flúor na placa, essa diferença não foi estatisticamente significativa quer do dentifício CARBONATO, quer do dentifício SÍLICA. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por **HASHIZUME *et al.* 1996** que verificaram que a adição de bicarbonato de sódio a um dentifício fluoretado contendo sílica como abrasivo, não altera a concentração de flúor na placa. Analisando o comportamento do flúor em dentifícios contendo MFP e diferentes sistemas abrasivos, **CRAWFORD *et al.* 1996**, verificaram *in vitro*, utilizando cromatografia, que não há diferença na liberação de fluoreto

solúvel durante a escovação, entre o dentífrico Colgate Baking Soda Peroxide® (com 1000 ppm F⁻, polifosfatos, NaHCO₃, peróxido de cálcio e sílica) e o dentífrico Colgate® sílica MFP. A biodisponibilidade do fluoreto também foi medida, através da redução da solubilidade do esmalte e incorporação de fluoreto, tendo sido encontrado que Colgate Baking Soda Peroxide® foi melhor que MFP sílica na redução da solubilidade do esmalte e ambos foram equivalentes na promoção da incorporação de fluoreto pelo esmalte. Embora tais resultados indiretamente tenham correlação com os encontrados no presente estudo, deve ser considerada a diferença da composição dos dentífricos testados. Considerando-se que a atuação dos dentífricos fluoretados no processo de des-re também pode ser vista como uma consequência da concentração de flúor na placa dental, e na ausência de outros dados de literatura que relatem a concentração de flúor na placa de dentífricos contendo bicarbonato de sódio, pode-se levar em conta os resultados de diversos estudos *in situ* de des-re (MURPHY *et al.* 1990, TERZOGLOU & CLARKSON 1991, HEILMAN & WEFEL 1994, WEFEL *et al.* 1994, HARLESS *et al.* 1994, KASHKET *et al.* 1994, ROBERSON *et al.* 1996, ZHANG *et al.* 1996, HASHIZUME *et al.* 1996) realizados com dentífricos contendo bicarbonato de sódio e flúor (proveniente de MFP ou de NaF) que verificaram um efeito não aditivo do NaHCO₃ sobre a capacidade de dentífricos fluoretados em inibir a desmineralização ou aumentar a remineralização do esmalte dentário. Enquanto tendência, a maior concentração de flúor sol. ácido na placa para CARB/BICAR, poderia estar refletindo a possibilidade de, em meio alcalino, ocorrer uma maior precipitação de flúor sobre a forma mineral (LARSEN & BRUUN, 1995).

Considerando que os fatores estudados relacionam-se com o desenvolvimento da cárie dental, se analisados globalmente, os resultados obtidos estão de

acordo com a maioria dos estudos que avaliaram em modelo animal a ação anti-cárie do bicarbonato de sódio. **FIRESTONE et al. 1982**, usando aplicação tópica de uma solução de NaHCO_3 a 10% em ratos, não encontrou redução de cárie, assim como **Mc MAHON et al. 1989**, **GRANT et al. 1989**, **TANZER et al. 1993**, **BEST et al. 1994** e **TANZER et al. 1995**, que concluíram que a ação anti cárie de dentifícios contendo NaHCO_3 é dependente do seu conteúdo de flúor. Entretanto, diversos trabalhos realizados com ratos inoculados com microrganismos como *S.mutans* e *S.sobrinus*, recebendo dieta cariogênica, provaram a ação anti-cárie do bicarbonato de sódio. **LUOMA et al. 1968** obtiveram redução do índice de cárie em ratos que ingeriram uma dieta cariogênica em que 4% da concentração de açúcar foi substituída por uma mistura de $\text{NaHCO}_3/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (9:1 M), sendo que ao final do experimento os animais apresentaram maior formação de cálculo dental, calcificação e necrose tubular renal. Em estudo semelhante, **LUOMA et al. 1972** conseguiram maior redução do índice de cárie de fissura e proximais, quando uma dieta contendo 15 ppm F^- foi adicionada da combinação de $\text{NaHCO}_3/\text{KH}_2\text{PO}_4$. **TANZER et al. 1987** e **TANZER et al. 1988** obtiveram resultados superiores para um pó dental com 98% de NaHCO_3 e 0,22% de NaF, aplicado topicamente, à solução de NaF na mesma concentração, mas não a NaF 10 ppm F^- na água de beber. **HOLZER 1988**, demonstrou que a aplicação tópica de um dentifício com ervas medicinais e 68 ou 45% de NaHCO_3 foi eficaz em reduzir cárie, comparado à água como controle, mas não um dentifício contendo 1000 ppm F^- na forma de MFP. **TANZER et al. 1990a** verificaram uma ação anti-cárie superior de uma formulação contendo NaF mais bicarbonato, quando comparada a um dentifício fluoretado convencional (MFP). **TORELL 1967**, encontraram clinicamente a mesma redução de cárie para formulações contendo NaHCO_3 e NaHCO_3 mais NaF.

Da mesma forma, se considerados coletivamente, os nossos resultados estão de acordo com a maioria dos estudos clínicos de redução do índice de placa, realizados com diversas formulações de dentifícios a base de NaHCO_3 (EMLING & YANKELL 1988, YANKELL & EMLING 1988, MURAI *et al.* 1988, MORAN *et al.* 1988, DENTINO *et al.* 1993, MULLALLY *et al.* 1995, SAGEL & WHITE 1997), as quais são equivalentes ou não ofereceram vantagem sobre os dentifícios convencionais.

Finalmente, a revisão da literatura mostrou resultados divergentes quanto à ação do bicarbonato nos diversos aspectos relacionados à doença periodontal (WOLFF *et al.* 1982, CERRA & KILLOY 1982, ROSLING *et al.* 1983, WEST & KING 1983, WALSH & KAUFMAN 1985, YANKELL & EMLING 1988, MURAI *et al.* 1988, BELLET & BELLET 1988 e FISCHMAN *et al.* 1992b), que a adição de bicarbonato de sódio a dentifícios não oferece vantagens clínicas na redução do cálculo (TALLER 1990, TANZER *et al.* 1992 e SEGRETO *et al.* 1995b), que formulações contendo bicarbonato de sódio são seguras (FISCHMAN *et al.* 1992a, MARSHALL *et al.* 1993, SHARMA *et al.* 1996, SHARMA *et al.* 1997, WILD *et al.* 1997), reduzem o mal odor oral com vantagem sobre os dentifícios convencionais (NILES *et al.* 1993) e que o bicarbonato de sódio apresenta baixo índice de eficiência de limpeza (SCHEMEHORN *et al.* 1992, HART & CANCRO 1993 e JOHANNSEN *et al.* 1993).

7. CONCLUSÃO

Embora o dentifrício fluoretado contendo bicarbonato de sódio a 14% tenha apresentado, coletivamente, uma tendência a influenciar positivamente nos diversos fatores relacionados à cárie dental, como contagem de estreptococos do grupo mutans, acidogenicidade da placa na presença de desafio cariogênico, concentração de polissacarídeos insolúveis e concentração de flúor solúvel em ácido na placa dental, essa diferença não alcançou nível de significância estatística, quando comparado aos dentifrícios contendo carbonato de cálcio ou sílica como abrasivo.

8. ANEXOS

ANEXO I*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA ORAL

INFORMAÇÃO E CONSENTIMENTO PÓS - INFORMAÇÃO PARA PESQUISA CLÍNICA
VOLUNTÁRIO: _____ RG : _____

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas por Rosa Fernanda Ignácio, Paulo E. Corrêa Peres e Prof.Dr.Jaime A.Cury, objetivando firmar acordo por escrito mediante o qual o indivíduo, objeto da pesquisa, autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos que se submeterá, com capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

I - TÍTULO DO TRABALHO EXPERIMENTAL

“Estudo Clínico do efeito de um dentífrico com Bicarbonato de Sódio, na acidogenicidade e composição da placa dental, e na contagem de estreptococos do grupo mutans na saliva e placa dental”.

II - OBJETIVO

O presente estudo visa verificar “In Vivo” a capacidade de um dentífrico com bicarbonato de sódio em inibir a acidogenicidade e a contagem de estreptococos do grupo mutans na placa dental e na saliva.

III - JUSTIFICATIVA

A existência de poucos trabalhos na literatura visando esclarecer a real eficácia de dentífricos com bicarbonato de sódio e seu possível mecanismo de ação, justificam a realização deste trabalho.

IV - PROCEDIMENTOS DO EXPERIMENTO

O experimento será realizado de agosto a dezembro de 1996, sendo testados neste período 3 tipos de dentífrico, incluindo placebo. Os voluntários, divididos em 3 grupos (de 8 voluntários cada), utilizarão o dentífrico em teste durante 30 dias. No 1º (baseline) e no 30º dia, das 7:00 às 9:00 hs, será realizado coleta de saliva (estimulada) para determinação da contagem de estreptococos do grupo mutans, com o voluntário em jejum e sem escovar os dentes. No 32º dia, após 48 hs sem escovar os dentes, usando apenas um bochecho do dentífrico em teste, e solução de sacarose a 10%, 6 vezes ao dia (para estimular a formação de placa), será feita a determinação do pH de placa no tempo zero e 05 minutos (com bochecho de sacarose após a primeira medida), utilizando-se um microeletrodo de Paládium (Beetrode*). Placa será

* Adaptado de ROSALEN, P. L. Estudo dos efeitos de antiácido na farmacocinética e reatividade do fluoreto com o esmalte dental, após aplicação tópica do flúor em gel. Piracicaba, 1991. 138p. [Tese (Doutoramento) - FOP-UNICAMP]

coletada para os procedimentos de contagem microbiana. No intervalo de cada cruzamento (de 7 dias) e no nivelamento inicial (também de 7 dias), os voluntários utilizarão dentífrico placebo.

V- DESCONFORTOS OU RISCOS ESPERADOS

O acúmulo de placa por 48 horas poderá produzir, devido ao amadurecimento da placa e conseqüente aumento do número de microrganismos anaeróbios, halitose, ligeira alteração na gengiva marginal, na forma de gengivite e, dependendo da freqüência de ingestão de sacarose pelos voluntários, pequenas desmineralizações poderão ocorrer na interface placa-esmalte. A retomada das medidas de controle de placa convencionais e a utilização de dentífricos e ou soluções fluoretadas, permitirão a remineralização das lesões incipientes, bem como a recuperação completa das condições de saúde gengival. Todos os dentífricos testados, inclusive o placebo, contêm flúor nas concentrações recomendadas, o que minimizará eventuais perdas minerais.

VI - INFORMAÇÕES

O voluntário tem a garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Os pesquisadores supra citados assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Os voluntários receberão R\$ 50,00 por cruzamento, para cobrir despesas de transporte, café da manhã, etc. Os resultados individuais são confidenciais e serão divulgados a cada voluntário no final da pesquisa para evitar subjetividade no comportamento de higiene bucal.

VIII - RETIRADA DO CONSENTIMENTO

O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento, a qualquer momento e deixar de participar do estudo.

IX - CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu,....., certifico que tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido de todos os itens pelo Prof.Dr.Jaime Aparecido Cury , Rosa Fernanda Ignácio e Paulo E. Corrêa Peres, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, eu autorizo a execução do trabalho de pesquisa, exposto acima, em mim.

Piracicaba, 09 de agosto de 1996

Nome (por extenso) :

Assinatura :

1ª via : Instituição

2ª via : Voluntário

ANEXO II

ORIENTAÇÕES AO VOLUNTÁRIO

1) O presente estudo é dividido nas seguintes etapas :

NIVELAMENTO (7 dias): período de nivelamento das condições de todos os voluntários

CRUZAMENTO (30 dias): período de teste do dentifrício. Durante todo o experimento, cada voluntário usará 3 tipos diferentes de dentifrício (3 cruzamentos)

INTERVALO (7 dias): período entre os cruzamentos, em que o voluntário usará o dentifrício fluoretado contendo sílica como abrasivo.

2) No período de nivelamento, durante os cruzamentos e nos intervalos, o voluntário deverá utilizar para sua higiene oral apenas os produtos fornecidos no experimento (dentifrício e escova de dente). Não utilizar qualquer tipo de bochecho antiplaca, gargarejo, produto a base de flúor, outra escova, etc. O uso de fio dental é permitido.

3) No período do nivelamento, durante o cruzamento e nos intervalos, o dentifrício fornecido deverá ser usado no mínimo após as refeições principais : após o café da manhã, o almoço e o jantar.

4) No 1º e no 30º dia de cada cruzamento será realizado a coleta de saliva, no laboratório de Bioquímica Oral. O voluntário deverá vir em jejum e sem escovar os dentes, entre as 7:30 e 9:30 (a última escovação deverá ter sido na noite anterior, após o jantar).

5) Após a coleta de saliva o voluntário deverá interromper a escovação dos dentes por dois dias, usando no lugar da escovação apenas um bochecho do dentifrício utilizado no cruzamento, além de bochechar sacarose 6 vezes ao dia para estimular a formação de placa. Nestes dois dias, não é permitido usar fio dental. No 33º dia, após 48 horas sem escovar os dentes, o voluntário deverá comparecer em jejum ao laboratório de Bioquímica Oral para medição do pH de placa.

6) Ao final de cada etapa, o voluntário deverá trazer o tubo do dentifrício para pesagem.

7) O uso de qualquer tipo de medicamento, principalmente antibióticos, deve ser comunicado imediatamente.

ANEXO III

ORIENTAÇÃO DE PROCEDIMENTOS

PREZADO VOLUNTÁRIO :

.....

Para as próximas 48 horas observe as seguintes orientações :

- Suspender a escovação dos dentes
- Não utilizar fio dental ou qualquer outro tipo de produto de higiene bucal
- Bochechar a suspensão do dentífrico 3 vezes ao dia
- Bochechar a solução de sacarose 6 vezes ao dia

Você está recebendo um kit contendo :

- 06 frascos plásticos com 3,0 g de dentífrico cada (para preparo do bochecho de dentífrico)
- 01 frasco plástico de 250 ml (vazio) e 03 “sachets” de açúcar refinado (para bochecho de sacarose)

Preparo do bochecho de dentífrico :

Coloque água filtrada até a marca indicada, tampe o frasco (mantendo o magípack) e aguarde uns 3 minutos. Agite vigorosamente até que todo o dentífrico tenha dispersado homogeneamente. Verta todo o conteúdo do frasco na boca e bocheche por exatamente 1 minuto. Cuspa o bochecho e enxague a boca 2 vezes, com água. O bochecho deverá ser feito 3 vezes ao dia, após as refeições principais, durante os dois dias.

Preparo do bochecho de sacarose :

Com cuidado, despeje o conteúdo dos 3 “sachets” de açúcar no frasco plástico de 250 ml. Coloque água filtrada no frasco até a marca indicada. Agite até a dissolução completa do açúcar na água. Após o preparo, conserve a solução em geladeira. O bochecho de sacarose deverá ser feito 6 vezes ao dia, por 1 minuto, usando a tampa como medida (para cada bochecho, usar 3 tampas não muito cheias). Se ocorrer a formação de qualquer tipo de depósito na solução de sacarose, suspenda o seu uso e entre em contato imediatamente para efetuarmos a substituição.

Cronograma de uso dos bochechos :

7:30	9:30	12:30	15:30	19:30	antes dormir
CAFÉ MANHÃ	BS	ALMOÇO	BS	JANTAR	BS
BS		BS		BS	
BD		BD		BD	

BS = bochecho de sacarose

BD = bochecho de dentifício

Atenção : trazer o kit usado no dia da medição do pH de placa

ANEXO IV

REAGENTES

MEIO DE CULTURA MITIS SALIVARIUS BACITRACINA (MSB)

90,0 g meio de cultura Mitis Salivarius DIFCO®

150,0 g sacarose MERCK®

1000,0 mL água destilada

Autoclavar a 120° C por 15 minutos. Aguardar o resfriamento a 50° C, adicionar bacitracina a uma concentração de 200 UI/L e 1,0 mL/L de uma solução a 10% de telurito de potássio.

TISAB/NAOH

TISAB (Tampão acetado 1,0 M pH 5,0 , CDTA* 0,4% e NaCl 1,0 M) MERCK®

NaOH 20,0 g/l MERCK®

*CDTA : Ácido diaminociclohexanotetracético 0,4%

TAMPÃO PBS (Tampão Fosfato pH 7,0, Salina)

KH₂PO₄ REAGEN® 4,54 g

Na₂HPO₄ REAGEN® 7,34 g

NaCl MERCK® 10,63 g

água destilada 1275,0 mL

Homogeneizar e autoclavar a 120° C por 20 minutos.

ANEXO V

Tabela 1 - Contagem de Estreptococos do Grupo Mutans em Saliva ($\times 10^6$ UFC/mL saliva)

VOLUNTÁRIO	SÍLICA	CARBONATO	CARB/BICAR
00	0,278	0,82	0,16
01	0,780	1,32	1,92
02	0,900	1,09	0,08
04	0,101	0,10	0,03
05	0,245	0,13	0,03
06	0,080	0,10	0,03
07	0,060	0,08	*
08	0,131	0,73	0,01
09	*	1,64	4,19
10	0,12	5,44	0,91
11	**	1,76	**
12	118,0	21,0	21,5
13	**	2,2	0,86
14	0,69	10,6	0,14
15	*	*	*
16	0,03	0,163	1,06
17	1,6	0,46	0,91
18	115,0	4,78	12,8
19	0,21	0,18	0,26
20	0,86	0,33	0,46
21	0,88	0,03	0,17
22	0,03	*	0,02
23	*	0,14	0,11

* não quantificável (considerado como zero)

** coleta não realizada

Tabela 2- Contagem de Estreptococos do Grupo Mutans em Placa (x 10⁶ UFC/mg placa)

VOLUNTÁRIO	SÍLICA	CARB	CARB/BICAR
00	*	*	*
01	*	0,0048	*
02	*	0,0068	*
04	*	*	*
05	1,53	0,35	0,0187
06	*	*	*
07	*	*	*
08	*	0,0013	*
09	*	*	*
10	**	**	**
11	**	0,00169	**
12	**	**	**
13	**	0,0023	*
14	0,0032	0,0056	*
15	*	*	*
16	*	*	*
17	*	0,0005	0,0069
18	0,0063	0,1450	0,0169
19	0,0464	0,0150	0,062
20	**	**	**
21	**	*	*
22	*	*	*
23	**	*	0,0191

* não quantificável (considerado como zero)

** coleta não realizada

Tabelas 3, 4 e 5 - pH da Placa Dental no T₀, T₅ e Δ pH

VOL.	SÍLICA			CARBONATO			CARB/BICAR		
	T ₀	T ₅	Δ pH	T ₀	T ₅	Δ pH	T ₀	T ₅	Δ pH
00	6,97	4,77	2,20	6,72	5,05	1,67	6,64	6,21	0,43
01	6,50	5,22	1,28	7,12	5,26	1,86	6,91	6,28	0,63
02	6,86	5,81	1,05	7,32	6,84	0,48	6,70	5,70	1,00
04	5,93	5,46	0,47	6,40	5,50	0,90	6,55	5,63	0,92
05	6,36	5,53	0,83	6,10	5,78	0,32	6,63	6,01	0,62
06	7,10	6,49	0,61	7,40	5,96	1,44	6,94	5,73	1,21
07	5,96	4,86	1,10	6,41	5,12	1,29	6,66	6,61	0,05
08	6,32	5,41	0,91	6,89	5,96	0,93	6,36	5,37	0,99
09	6,78	6,07	0,71	6,41	5,94	0,47	6,56	6,05	0,51
10	**	**	**	**	**	**	**	**	**
11	**	**	**	7,57	5,68	1,89	**	**	**
12	**	**	**	**	**	**	**	**	**
13	**	**	**	6,40	5,19	1,22	6,58	5,55	1,03
14	6,94	5,30	1,64	5,59	4,55	1,04	6,55	4,92	1,63
15	7,18	6,20	0,98	7,00	6,21	0,80	7,18	6,11	1,07
16	6,35	4,63	1,72	6,58	4,84	1,74	5,50	5,01	0,49
17	7,05	5,95	1,10	7,77	6,37	1,40	6,91	5,48	1,43
18	6,79	5,81	0,99	7,53	5,97	1,57	6,10	5,44	0,66
19	6,34	5,59	0,75	7,00	5,56	1,44	6,55	4,89	1,66
20	**	**	**	**	**	**	**	**	**
21	7,13	5,90	1,23	7,24	6,20	1,04	7,78	6,40	1,38
22	7,75	6,32	1,43	6,59	5,99	0,60	6,15	5,02	1,13
23	**	**	**	7,52	6,30	1,22	7,09	5,85	1,24

** medição não realizada

Tabela 6 - Concentração de Polissacarídeos Álcali Sol. na Placa (μg polis./ mg placa)

VOLUNTÁRIO	SÍLICA	CARBONATO	CARB/BICAR
00	5,6	9,5	3,9
01	8,7	10,6	7,4
02	4,5	5,7	6,7
04	12,8	14,7	6,5
05	11,9	15,7	1,7
06	4,4	4,7	5,5
07	**	**	**
08	6,7	6,4	10,4
09	4,2	6,0	5,5
10	**	**	**
11	**	**	**
12	**	**	**
13	**	**	**
14	5,2	8,0	5,5
15	7,0	8,3	3,3
16	7,2	6,7	10,5
17	7,3	10,3	6,2
18	5,5	7,3	8,2
19	5,3	6,9	4,6
20	**	**	**
21	7,4	9,6	4,5
22	6,6	4,9	7,3
23	**	**	**

** coleta não realizada

Tabela 7 - Concentração de Flúor Sol. Ácido na Placa (μg Flúor / g placa)

VOLUNTÁRIO	SÍLICA	CARBONATO	CARB/BICAR
00	14,7	29,9	65,2
01	28,8	322,0	171,0
02	158,1	35,7	26,8
04	31,4	41,7	6,0
05	6,0	4,3	11,0
06	7,1	11,3	29,4
07	**	**	**
08	9,6	7,0	2,8
09	27,2	93,7	223,6
10	**	**	**
11	**	**	**
12	**	**	**
13	**	**	**
14	13,4	10,3	22,1
15	71,5	59,7	49,0
16	16,8	13,6	51,1
17	3,8	7,7	21,3
18	44,2	51,7	54,3
19	92,9	10,1	22,1
20	**	**	**
21	31,5	39,3	21,2
22	29,8	31,9	58,5
23	**	**	**

** coleta não realizada

9. SUMMARY

This investigation evaluated the effect of a baking soda-containing dentifrice on mutans streptococci counting, acidogenicity and composition of dental plaque. Twenty-three volunteers brushing their teeth 3 times a day, tested 3 formulations of fluoride (1500 ppm F), containing or sodium bicarbonate (14%) associated with calcium carbonate (CARB/BICAR), or calcium carbonate (CARBONATE), or silica (SILICA), in a double blind crossover trial, done in 3 phases of 30 days each, with a 7-day washout period, during which SILICA dentifrice was used. In the 28th day, 8-10 hours after the last brushing, enumeration of mutans streptococci in saliva (SMS) was made. In the 30th day, after 48 hours, during which the subjects were instructed to rinse a slurry (toothpaste/water) 3 times a day, and sucrose 10% 6 times a day, it was analyzed in dental plaque, 10-12 hours after the last rinse: a) mutans streptococci (PMS); b) polysaccharide alkali-soluble (ASP); c) acid soluble F (ASF) and d) pH in T₀ (T₀), 5 min. after cariogenic challenge (T₅), calculating ΔpH (T₀ - T₅). The results (mean \pm SE) according to the treatments with dentifrices SILICA, CARBONATE and CARB/BICAR, were respectively : 1) SMS ($\times 10^6$ UFC/mL saliva) = 11.43 \pm 7.62 A; 2,33 \pm 1.04 A; 2.07 \pm 1.10 A; 2) PMS ($\times 10^6$ UFC/mg) = 0.099 \pm 0.095 A; 0.027 \pm 0.018 A; 0.007 \pm 0.003 A; 3) ASP ($\mu\text{g}/\text{mg}$) = 6.89 \pm 0.62 AC; 8.46 \pm 0.80 AB; 6.11 \pm 0.59 C; 4) ASF ($\mu\text{g}/\text{g}$) = 36.67 \pm 10.10 A; 48.12 \pm 19.23 A; 52.21 \pm 15.12 A; 5) T₀ = 6.72 \pm 0.12 A; 6.88 \pm 0.13 A; 6.65 \pm 0.11 A; 6) T₅ = 5.61 \pm 0.13 A; 5.71 \pm 0.13 A; 5.70 \pm 0.12 A; 7) ΔpH = 1.12 \pm 0.11 A; 1.17 \pm 0.11 A; 0.95 \pm 0.10 A. Means followed by the same letter do not differ significantly (P < 0.05). The data show that although the baking soda-containing dentifrice demonstrated, collectively, a trend to

influence positively the various factors of dental caries, did not differ significantly of SILICA and CARBONATE dentifrices.

Keys-words : dentifrice, baking soda, dental plaque, mutans streptococci, acidogenicity, fluoride, Polysaccharide .

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

- 001) BACCA, L.A., BECUS, M.S., LEUSCH, M.S. Comparative antimicrobial effects of SnF₂ and baking soda/peroxide/ NaF dentifrices. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.317, 1996a. [Abstract, 2400].
- 002) _____, MACKSOOD, D., LANZALACO, A.C. Comparative effects of SnF₂ and baking soda/peroxide/NaF dentifrices on plaque glycolysis & regrowth. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.317, 1996b. [Abstract, 2399].
- 003) BANOCZY, J. *et al.* The effect of bicarbonate/fluoride slurries on human plaque pH. *J. dent. Res.*, Washington, v.76, p.36, 1997. [Abstract, 180].
- 004) BELLET, L., BELLET, A. Comparative clinical trials of a european herbal sodium bicarbonate dentifrice and a widely-used dentifrice containing MFP, in braced-induced gingivitis. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.1, p.25-26, 1988.
- 005) BEST, J.M. *et al.* Anticaries efficacy of a new fluoride tooth paste containing pyrophosphate and baking soda. *J. dent. Res.*, Washington, v.73, p.240, 1994. [Abstract, 1112].
- 006) BRATTHALL, D., ERICSSON, D. Testes para determinar o risco de cárie. In : THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.16, p.333-353.
- 007) CARLSSON, J., HAMILTON, I. Atividade metabólica das bactérias orais. In : THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.4, p.71-88.
- 008) CAUFIELD, P.W., NAVIA, J.M. Agentes microbianos na profilaxia das cáries. In : MENAKER, L. *Cáries dentárias : bases biológicas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. cap.18, p.340-367.

* De acordo com a NBR-6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), de 1989. Abreviatura dos periódicos, conforme o "World List of Scientific Periodicals".

- 009) CERRA, M.B., KILLOY, W.J. The effect of sodium bicarbonate and hydrogen peroxide on the microbial flora of perindontal pockets. *J. Periodont...*, Chicago, v.53, n.10, p.599-603, 1982.
- 010) CRAWFORD, R. *et al.* Fluoride release and bioavailability of Colgat's baking soda & peroxide toothpaste. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.192, 1996. [Abstract, 1399].
- 011) CUMMINS, D.W., CREETH, J.E. Delivery of antiplaque agents from dentifrices, gels and mouthwashes. *J. dent. Res.*, Washington, v.71, n.7, p.1439-1449, 1992.
- 012) CURY, J.A., REBELLO, M.A.B., CURY, A.A.DEL BEL. In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res.*, Basel. [no prelo].
- 013) DAWES, C. Effect of bicarbonate on Stephan curves in a model plaque system. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.253, 1996. [Abstract, 1884].
- 014) DE VIZIO, W. *et al.* Anticalculus efficacy of a tartar control dentifrice containing sodium bicarbonate and calcium peroxide. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.430, 1996. [Abstract, 3302].
- 015) DENTINO, A. *et al.* Effect of baking soda-peroxide dentifrice on post-surgical healing. *J. dent. Res.*, Washington, v.72, p.249, 1993. [Abstract, 1164].
- 016) DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric method for determinations of sugars and related substances. *Analyt. Chem.*, Washington, v.28, p.350-356, 1956.
- 017) DUKE, S. Effect of a chalk-based toothpaste on pH changes in dental plaque in vivo. *Caries Res.*, Basel, v.20, n.3, p.278-283, 1986.
- 018) EMLING, R.C., YANKELL, S.L. The comparative clinical evaluation of overnight plaque trials with Paradontax and Crest. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.1, p.20-21, 1988.
- 019) FEJERSKOV, O., THYLSTRUP, A. Diferentes conceitos da cárie dentária e suas implicações. In : THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.9, p.209-217.

- 020) FIEHN, N.E. Nutrient and environmental growth factors for nine oral small-sized spirochete strains containing one endoflagellum from each cell end. *APMIS*, Copenhagen, v.97, p.287-296, 1989.
- 021) FIRESTONE, A.R., SCHMID, R., MÜHLEMANN, H.R. Effect of topical application of urea peroxide on caries incidence and plaque accumulation in rats. *Caries Res.*, Basel, v.16, n.2, p.112-117, 1982.
- 022) FISCHMAN, S.L. *et al.* The laboratory and clinical safety evaluation of a dentifrice containing hydrogen peroxide and baking soda. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.3, n.4, p.104-110, 1992a.
- 023) _____. *et al.* The motivational benefits of a dentifrice containing baking soda and hydrogen peroxide. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.3, n.3, p.88-92, 1992b.
- 024) FLETCHER, R.D. *et al.* The effect of the keyes procedure in vitro on microbial agents associated with periodontal disease. *Quintessence int.*, Berlin, v.3, p.329-334, 1984.
- 025) GOLDBERG, H.J.V., ENSLEIN, K. Effects of an experimental sodium bicarbonate dentifrice on gingivitis and plaque formation: I. In adults. *Clin. prev. Dent.*, Waco, v.1, n.5, p.12-16, 1979.
- 026) GRANT, L., McMAHON, T., TANZER, J.M. Caries inhibitory effects of bicarbonate-based dentifrices compared to Crest. *J.dent. Res.*, Washington, v.68, p.246, 1989. [Abstract, 520].
- 027) GUEDES, D.A. Relação dos estudos in vitro com os problemas clínicos. In : BOWEN, W.H., TABAK, L.A. *Cariologia para a década de 90*. São Paulo: Santos, 1995. p.197-205.
- 028) GUGGENHEIM, B. Extracellular polysaccharides and microbial plaque. *Int. dent. J.*, Guildford, v.20, n.4, p.657-678, 1970.
- 029) _____, LUTZ, F., SCHMID, R. Caries and plaque inhibition in rats by five topically applied dentifrices. *J. dent. Res.*, Washington, v.76, p.134, 1997. [Abstract, 962].

- 030) HAMADA, S., SLADE, H.D. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol. Rev.*, Washington, v.44, n.2, p.331-384, 1980.
- 031) HARLESS, J.D. *et al.* Fluoride dose response in an intra oral model system. *J. dent. Res.*, Washington, v.73, p.240, 1994. [Abstract, 1111].
- 032) HART, R., CANCRO, L.P. Cleaning efficiency of a hydrogen peroxide-baking soda dentifrice. *J. dent. Res.*, Washington, v.72, p.248, 1993. [Abstract, 1160].
- 033) HASHIZUME, L.N., CURY, A.A.D.B., CURY, J.A. In situ study of the effect of a dentifrice containing F and/or NaHCO₃ on the demineralization/remineralization of enamel and in the composition of dental plaque. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.193, 1996. [Abstract, 1401].
- 034) HATTAB, F.N. The state of fluorides in toothpastes. *J. dent.*, Oxford, v.17, n.2, p.47-54, 1989.
- 035) HEILMAN, J.R., WEFEL, J.S. A cycling root caries model using baking soda dentifrices. *J. dent. Res.*, Washington, v.73, p.338, 1994. [Abstract, 1892].
- 036) HOLZER, C. Effect of topical application of dentifrices containing sodium hydrogen carbonate, MFP and sodium fluoride on caries incidence, plaque extent molar surface dissolution rate and fluoride content in rats. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.1, p.11-13, 1988.
- 037) IGARASHI, K., LEE, I.K., SCHACHTELE, C.F. Effect of chewing gum containing sodium bicarbonate on human interproximal plaque pH. *J. dent. Res.*, Washington, v.67, n.3, p.531-535, 1988.
- 038) JENKINS, G.N. *Pellicle, plaque and calculus. The physiology and biochemistry of the mouth*. 4. ed. Oxford: Blackwell, p.360-413, 1978.
- 039) JOHANNSEN, G., REDMALM, G., RYDEN, H. Cleanning effect of toothbrushing with three different toothpastes and water. *Swed. dent. J.*, Stockholm, v.17, n.3, p.111-116, 1993.

- 040) KASHKET, S. *et al.* Validation of the intraoral delta ip system and use of the system to test the efficacy of Mentadent® dentifrice. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.5, n.4, p.110-113, 1994.
- 041) KRASSE, B. Uma breve revisão da patogenia. In : _____. *Risco de Cáries : um guia prático para controle e assessoramento*. São Paulo: Quintessence, 1986. cap.1, p.14-28.
- 042) LAGERLÖF, F., OLIVEBY, A. Caries protective factors in saliva. *Adv. dent. Res.*, Washington, v.8, n.2, p.229-238, 1994.
- 043) LANDRIGAN, W. F. *et al.* Anticaries efficacy of healthy gum/healthy mouth dentifrices. *J. dent. Res.*, Washington, v.76, p.213, 1997. [Abstract, 1598].
- 044) LARSEN, M.J., BRUUN, C. A química da cárie dentária e o flúor: mecanismos de ação. In: THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica* 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.11, p.231-257.
- 045) LEGIER-VARGAS, K. *et al.* Effects of sodium bicarbonate dentifrices on the levels of cariogenic bacteria in human saliva. *Caries Res.*, Basel, v.29, n.2, p.143-147, 1995.
- 046) LEGLER, D.W., MENAKER, L. Definição, etiologia, epidemiologia e implicações clínicas da cárie dentária. In : MENAKER, L. *Cáries dentárias: bases biológicas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1980. cap.8. p.186-199.
- 047) LINGSTROM, P., BIRKHED, D., REINHOLD, A.C. Effect of chewing-guns on pH recovery using two different plaque-pH methods. *J. dent. Res.*, Washington, v.71, p.521, 1992. [Abstract, 48].
- 048) LOESCH, W.J. Adesão microbiana e placa. In : _____. *Cárie dental : uma infecção tratável*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993a. cap.6, p.53-72.
- 049) _____. Metabolismo dos carboidratos pelos microrganismos da placa. In : _____. *Cárie Dental : uma infecção tratável*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993b. cap.9, p.103-127.

- 050) LOESCH, W.J. Produção de ácido na placa. In : _____. *Cárie Dental: uma infecção tratável*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993c. cap.10, p.128-150.
- 051) _____. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. *Microbiol. Rev.*, Washington, v.50, n.4, p.353-380, 1986.
- 052) LUOMA, H., NISKA, K., TURTOLO, L. Reduction of caries in rats through bicarbonate-phosphate additions to dietary sucrose. *Archs oral Biol.*, Oxford, v.13, n.11, p. 1343-1358, 1968.
- 053) _____. *et al.* Elevation of plaque sodium content and pH through a bicarbonate-phosphate addition to sucrose. *Acta odont. scand.*, Oslo, v.29, n.1, p.85-94, 1971.
- 054) _____. *et al.* Modification of dental caries and calculus in rats by fluoride and bicarbonate-phosphate-fluoride additions to dietary sugar. *Archs oral Biol.*, Oxford, v.17, n.05, p. 821-828, 1972.
- 055) Mc MAHON, T., TANZER, J.M., GRANT, L. Fluorine-dependency of anticaries effects of NaHCO₃-based powdered dentifrice. *J. dent. Res.*, Washington, v.68, p.246, 1989. [Abstract, 518].
- 056) MACPHERSON, L.M.D., CHEN, W.Y. , DAWES,C. Effects of salivary bicarbonate content and film velocity on pH changes in an artificial plaque containing Stretococcus oralis, after exposure to sucrose. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, n.9, p.1235-1238, 1991.
- 057) MANDEL, I.D. Chemotherapeutic agents for controlling plaque and gingivitis. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.15, p.488-498, 1988.
- 058) MARKS, R.G. *et al.* An evaluation of an anti-tartar dentifrice containing 3,5% pyrophosphate. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.25, 1995a. [Abstract, 107].
- 059) _____. *et al.* Clinical evaluation of a anti-tartar dentifrice containing hydrogen peroxide. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.25, 1995b. [Abstract, 108].

- 060) MARSH, P.D. Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. *J. dent. Res.*, Washington, v.71, n.7, p.1431-1438, 1992.
- 061) _____. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv. dent. Res.*, Washington, v.8, n.2, p.263-271, 1994.
- 062) MARSHALL, M.V. *et al.* Cocarcinogenicity bioassay of a dentifrice delivering 1,5% H₂O₂. *J. dent. Res.*, Washington, v.72, p.248, 1993. [Abstract, 1155].
- 063) MEIER, B., DRAKE, D. Bactericidal activity of baking soda and SDS: dose response. *J. dent. Res.*, Washington, v.76, p.437, 1997. [Abstract, 3385].
- 064) MILLEMAN, J.L. *et al.* Evaluation of bicarbonate dentifrices containing zinc on calculus formation. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.430, 1996. [Abstract, 3297].
- 065) _____. *et al.* Evaluation of bicarbonate zinc dentifrices using a 2-week human tartar model. *J. dent. Res.*, Washington, v.76, p.357, 1997. [Abstract, 2745].
- 066) MORAN, J., ADDY, M., NEWCOMBE, R. Comparison of an herbal toothpaste with a fluoride toothpaste on plaque and gingivitis. *Clin. prev. Dent.*, Waco, v.13, n.3, p.12-15, 1991.
- 067) MULLALLY, B.H. *et al.* The efficacy of a herbal-based toothpaste on the control of plaque and gingivitis. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.22, n.9, p.686-689, 1995.
- 068) MURAI, S. *et al.* Double-blind evaluation of the clinical efficacy of an herbal dentifrice against gingivitis and periodontitis. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.1, p.27-29, 1988.
- 069) MURPHY, J., VAN HOUTE, J., KASHET, S. Reducion of intraoral demineralization by bicarbonate-based dentifrices containing NaF. *J. dent. Res.*, Washington, v.69, p.373, 1990. [Abstract, 2120].
- 070) NELSON, B., LI, Y.H. Effect of sodium bicarbonate on retention of biofilm cells. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.205, 1996. [Abstract, 1504].

- 071) NEWBRUN, E. Testes e atividades de cárie. In : _____. *Cariologia*. São Paulo: Santos, 1988. cap.8, p.257-273.
- 072) _____, HOOVER, C.I., RYDER, M.I. Bactericidal action of bicarbonate ion on select periodontal pathogenic microorganisms. *J. Periodont.*, Chicago, v.55, n.11, p.658-667, 1984.
- 073) NILES, H.P., MILLER, S., GAFFAR, A Mouth odor reduction by a sodium bicarbonate dentifrice. *J. dent. Res.*, Washington, v.72, p.249, 1993. [Abstract, 1167].
- 074) NILNER, K., VASSILAKOS, N., BIRKHED, D. Effect of a buffering sugar-free lozenge on intraoral pH and electrochemical action. *Acta odont. scand.*, Oslo, v.49, n.5, p.267-272, 1991.
- 075) NOBRE DOS SANTOS, M. , CURY, J.A. Dental plaque fluoride is lower after discontinuation of water fluoridation. *Caries Res.*, Basel, v.22, p.316-317, 1988.
- 076) NYVAD, B., FEJERSKOV, O. Desenvolvimento, estrutura e pH da placa dental. In : THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.5, p.89-110.
- 077) O'MULLANE, D.M. *et al.* A 12-month study of the efficacy of a pre-brushing rinse in plaque removal. *J. Periodont.*, Chicago, v.65, n.6, p.611-615, 1994.
- 078) OZANICH, D. *et al.* Effect of a sodium benzoate-sodium bicarbonate compound on dental plaque formation. *J. Periodont.*, Chicago, v.64, n.11, p.1067-1070, 1993.
- 079) POLLOCK, J.J. *et al.* Bacteriolysis of *Streptococcus mutans* BHT by lysozyme and inorganic anions. *Archs oral Biol.*, Oxford, v.26, n.9, p.711-716, 1981.
- 080) _____. *et al.* In vitro and in vivo studies of cellular lysis of oral bacteria by a lysozyme-protease inorganic monovalent anion antibacterial system. *Infect. Immun.*, Washington, v.45, n.3, p.610-617, 1984.

- 081) POLLOCK, J.J. *et al.* Synergism of lysozyme, proteases and inorganic monovalent anions in the bacteriolysis of oral *Streptococcus mutans* GS5. *Archs oral Biol.*, Oxford, v.28, n.9, p.865-871, 1983.
- 082) PUTT, M.S. *et al.* Calculus inhibition by bicarbonate dentifrices with zinc oxide or pyrophosphate. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.429, 1996. [Abstract, 3296].
- 083) _____. *et al.* Effect of a pyrophosphate baking soda dentifrice in a human calculus model. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.209, 1995. [Abstract, 1582].
- 084) ROBERSON, A. *et al.* Anti-carie efficacy of Colgate Tartar Control Baking Soda Peroxide Toothpaste. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.192, 1996. [Abstract, 1397].
- 085) ROSLING, B.G. *et al.* Microbiological and clinical effects of topical subgingival antimicrobial treatment on human periodontal disease. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.10, n.5, p.487-514, 1983.
- 086) SAGEL, P., WHITE, D.J. Dentifrice effects on plaque regrowth: digital plaque image analysis. *J. dent. Res.*, Washington, v.76, p.273, 1997. [Abstract, 2075].
- 087) _____, WHITE, D.J., COX, E.R. Effects of dentifrice treatments in vivo on ex vivo plaque metabolism. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.430, 1996. [Abstract, 3298].
- 088) SCHEIE, A.A. Mechanisms of dental plaque formation. *Adv. dent. Res.*, Washington, v.8, n.2, p.246-253, 1994.
- 089) _____. Quimioprofilaxia da cárie dentária. In: THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.14, p.311-326.
- 090) SCHEMEHORN, B.R. *et al.* Comparing dentifrice abrasive systems with regard to abrasion and cleaning. *J. dent Res.*, Washington, v.71, p.559, 1992. [Abstract, 352].

- 091) SEGRETO, V.A. *et al.* Anti-calculus benefit of two bicarbonate dentifrices containing different pyrophosphate levels. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.209, 1995a. [Abstract, 1577].
- 092) SEGRETO, V.A. *et al.* Clinical effects of baking soda and baking soda pyrophosphate on calculus formation. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.118, 1995b. [Abstract, 849].
- 093) SHARMA, N. *et al.* Improved cleaning with a baking soda peroxide tartar control dentifrice. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.430, 1996. [Abstract, 3301].
- 094) _____. *et al.* Tooth whitening with a tartar control toothpaste containing baking soda and peroxide. *J. dent. Res.*, Washington, v.75, p.95, 1997. [Abstract, 650].
- 095) SRIKANTHA, R., CARDENZANA, A., DRAKE, D.R. Synergistic bactericidal activity of baking soda and SDS against *Streptococcus mutans*. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.50, 1995. [Abstract, 310].
- 096) TAHMASSEBI, J., DUGGAL, M.S., CURZON, M.E.J. Effect of a calcium carbonate-based toothpaste with 0,3% triclosan on pH changes in dental plaque in vitro. *Caries Res.*, Basel, v.28, n.4, p.272-276, 1994.
- 097) TALLER, S.H. A clinical study of the anti-calculus effect of two pyrophosphate containing dentifrices and baking soda. *J. New Jers. dent. Ass.*, v.61, n.2, p.20-23, 1990.
- 098) TANZER, J.M., CLINTON, D., GRANT, L. Bicarbonate based tartar-control dentifrice paste inhibits caries in rats. *J. dent. Res.*, Washington, v.72, p.346, 1993. [Abstract, 1940].
- 099) _____, GRANT, L., CIARCIA, J. Effects of bicarbonate-based dental powder, fluoride, and saccharin on dental caries and on *Streptococcus sobrinus* recoveries in rats. *J. dent. Res.*, Washington, v.66, n.3, p.791-794, 1987.

- 100) TANZER, J.M., GRANT, L., McMAHON, T. Bicarbonate-based dental powder, fluoride, and saccharin inhibition of dental caries associated with *Streptococcus mutans* infection of rats. *J. dent. Res.*, Washington, v.67, n.6, p.969-972, 1988.
- 101) _____, _____, _____. Comparative dentifrice effects on caries. *J. dent. Res.*, Washington, v.69, p.373, 1990a. [Abstract, 2118].
- 102) _____, McMAHON, T., GRANT, L. Bicarbonate-based powder and paste dentifrice effects on caries. *Clin. prev. Dent.*, Waco, v.12, n.1, p.18-21, 1990b.
- 103) _____, *et al.* Calculus inhibition by bicarbonate-based dentifrices containing pyrophosphate. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.522, 1992. [Abstract, 52].
- 104) _____, *et al.* Dose-response of caries inhibition by NaF/HCO₃⁻ based dentifrices. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.14, 1995. [Abstract, 24].
- 105) TAYLOR, M. *et al.* Evaluation of anti-tartar dentifrices on calculus formation. *J. dent. Res.*, Washington, v.74, p.50, 1995. [Abstract, 306].
- 106) TENOVUO, J., LAGERLÖF, F. Saliva. In: THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Santos, 1995. cap.2, p.17-43.
- 107) TERZOGLOV, C., CLARKSON, B.H. The effect of a F⁻ containing HCO₃⁻ dentifrice on in vitro caries. *J. dent. Res.*, Washington, v.70, p.306, 1991. [Abstract, 328].
- 108) TORELL, P. Reversals in caries diagnosis. *Acta odont. scand.*, Oslo, v.25, n.2, p.191-203, 1967.
- 109) TORTOSA, M. *et al.* Bacteriolysis of *Veillonella alcalescens* by lysozyme and inorganic anions presents in saliva. *Infect. Immun.*, Washington, v.32, n.3, p.1261-1273, 1981.
- 110) TURTOLA, L.O. Fluoride content of dental plaque before, during and after ingestion of sucrose modified. *Scand. J. dent. Res.*, Copenhagen, v.85, n.6, p.380-386, 1977.

- 111) WALSH, M., KAUFMAN, N. Subgingival application of a hydrogen peroxide/baking soda mixture with a toothpick. *Clin. prev. Dent.*, Waco, v.7, n.2, p.21-24, 1985.
- 112) WEFEL, J.S., HOGAN, M.M., DONLY, K.J. Intra oral evaluation of a bicarbonate-containing dentifrice. *J. dent. Res.*, Washington, v.73, p.240, 1994. [Abstract, 1109].
- 113) WEST, T.L. , KING, W. Toothbrushing with hydrogen peroxide-sodium bicarbonate compared to toothpowder and water in reducing periodontal pocket suppuration and darkfield bacterial counts. *J. Periodont.*, Chicago, v.54, n.6, p.339-346, 1983.
- 114) WILD, S. *et al.* Safety evaluation of Colgate Baking Soda & Peroxide toothpaste. *J. dent. Res.*, Washington, v.76, p.357, 1997. [Abstract, 2746].
- 115) WINER, R.A., EPSTEIN, S., CHAUNCEY, H.H. Effect of an experimental dentifrice on plaque accumulation and gingival inflammation. *Spec. care Dent.*, Chicago, v.6, n.5, p.228-230, 1986.
- 116) _____, TSAMTSOURIS, A. Effects of an experimental sodium bicarbonate dentifrice on gingivitis and plaque formation: II. In teenaged students. *Clin. prev. Dent.*, Waco, v.1, n.5, p.17-18, 1979.
- 117) WOLFF, L.F. *et al.* Phase contrast microscopic evaluation of sub gengival plaque in combination with either convetional or antimicrobial home treatment of patients with periodontal infalmmation. *J. Periodont. Inflam.*, v.17, n.4-6, p.537-540, 1982.
- 118) YANKELL, S.L., DOLAN, M.M., EMLING, R.C. Laboratory evaluations of an herbal sodium bicarbonate dentifrice. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.1, p.6-8, 1988.
- 119) _____, EMLING, R.C. Two month evaluation of Parodontax dentifrice. *J. clin. Dent.*, Yardley, v.1, p.41-43, 1988.

- 120) YANKELL, S.L., EMLING, R.C., PEREZ, B. Six-month evaluation of Parodontax dentifrice compared to a placebo dentifrice. *J. clin. Dent., Yardley*, v.4, n.1, p.26-30, 1993.
- 121) YASKELL, T., KASHKT, S., NELSON, B.J. Effects of high bicarbonate in dentifrice on intraoral demineralization. *J. dent. Res., Washington*, v.75, p.253, 1996. [Abstract, 1885].
- 122) ZHANG, Y.P. *et al.* Evaluation of anti-caries efficacy on Colgate Tartar Control Baking Soda and Peroxide dentifrice using a short-term remin intra oral model. *J. dent. Res., Washington*, v.75, p.192, 1996. [Abstract, 1398].