



HELOISA NAVARRO PANTAROTO

**DISPONIBILIZAÇÃO DE FLUORETO NA SALIVA APÓS O USO DE
DENTIFRÍCIOS CONTENDO NaF OU MFP**

**FLUORIDE AVAILABILITY IN SALIVA AFTER USE OF NaF OR MFP
DENTIFRICES**

Piracicaba 2014

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

HELOISA NAVARRO PANTAROTO

**DISPONIBILIZAÇÃO DE FLUORETO NA SALIVA APÓS O USO DE
DENTIFRÍCIOS CONTENDO NAF OU MFP**

**FLUORIDE AVAILABILITY IN SALIVA AFTER USE OF NAF OR MFP
DENTIFRICES**

Monografia apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, como trabalho de conclusão de curso de graduação em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta.

Piracicaba

2014

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

P195d	<p>Pantaroto, Heloisa Navarro, 1991- Disponibilização de fluoreto na saliva após o uso de dentifrícios contendo NAF ou MFP / Heloisa Navarro Pantaroto. – Piracicaba, SP: [s.n.], 2014.</p> <p>Orientador: Lívia Maria Andaló Tenuta. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Escovação dentária. 2. Saúde bucal. 3. Cáries. 4. Cremes dentais. 5. Higiene bucal. I. Tenuta, Lívia Maria Andaló, 1976-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.</p>
-------	---

Dados fornecidos pelo autor do trabalho

RESUMO

Dentifrícios fluoretados são reconhecidos pela sua eficácia na prevenção de cárie, a qual é baseada no efeito de F solúvel (na forma iônica e MFP) disponível na formulação. Nos dentifrícios a base de fluoreto de sódio (NaF), todo o F está na forma iônica, enquanto nas formulações a base de monofluorofosfato (Na_2FPO_3 , MFP), o F é ligado covalentemente ao fosfato e requer a hidrólise enzimática para liberar F iônico. Neste estudo, foi avaliado F solúvel (iônico e na forma de MFP) disponível na saliva após a escovação com dentifrícios brasileiros mais vendidos, formulados a base de NaF ou Na_2FPO_3 (contendo, respectivamente, SiO_2 e CaCO_3 como abrasivos). Em um estudo in vivo, cruzado e cego, 12 voluntários escovaram seus dentes por 1 minuto, com 1 g dos dentifrícios: a. dentifrício não fluoretado, b. dentifrício a base de $\text{Na}_2\text{FPO}_3/\text{CaCO}_3$ (1361.1 ± 28.7 ppm F solúvel, Sorriso Dentes Brancos[®]) ou c. dentifrício a base de NaF/ SiO_2 (1422.1 ± 6.21 ppm F solúvel, Colgate Total 12[®]). Saliva não estimulada foi coletada antes e 5, 15, 30, 45 e 60 minutos após a escovação. As concentrações de F solúvel total (FST) e F iônico (FI) foram dosadas por um eletrodo íon-seletivo. A concentração de FST foi similar após o uso das duas formulações de dentifrícios fluoretados. O percentual de F iônico após o uso de dentifrício a base de MFP/ CaCO_3 variou de 30,8% a 84,4% durante o período de estudo. Os resultados sugerem que as formulações comumente utilizadas no Brasil são capazes de aumentar a concentração de F na saliva para interferir com o processo de cárie dental.

Palavras-chave: Escovação, saúde bucal, cárie, creme dental, higiene.

ABSTRACT

Fluoride (F) toothpastes are well recognized for their effectiveness in caries prevention, which is based on the effect of soluble F (ionic and as MFP ion) available from the formulation. In sodium fluoride (NaF) toothpastes, all F is ionic, whereas in sodium monofluorophosphate (Na_2FPO_3 , MFP) toothpastes, F is covalently bound to phosphate and requires enzymatic hydrolysis to release F ion. In this study, we evaluated soluble F (ionic and as MFP ion) availability in saliva following toothbrushing with top-selling Brazilian toothpastes with formulations based on NaF or Na_2FPO_3 (containing, respectively, SiO_2 and CaCO_3 as abrasives). In an in vivo, crossover and blind design, 12 volunteers brushed their teeth for 1 min with 1 g of the toothpastes: a. non-fluoridated toothpaste, b. $\text{Na}_2\text{FPO}_3/\text{CaCO}_3$ toothpaste (1361.1 ± 28.7 ppm soluble F, Sorriso Dentes Brancos[®]) or c. NaF/ SiO_2 toothpaste (1422.1 ± 6.21 ppm soluble F, Colgate Total 12[®]). Unstimulated saliva was collected before brushing and 5, 15, 30, 45 and 60 min following toothbrushing. Total soluble F (TSF) and ionic F concentrations were measured by means of ion-selective electrode. The concentration of TSF was similar after the use of two formulations of fluoride dentifrices. The percentage of ionic F after the used of the MFP/ CaCO_3 toothpaste ranged from 30.8% to 84.4% during the study period. The results suggest that formulations commonly used in Brazilian dentifrices are able to increase the F concentration in saliva to interfere with the dental caries process.

Key words: toothbrushing, oral health, caries, toothpaste, hygiene.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	09
AGRADECIMENTOS	10
INTRODUÇÃO	11
MATERIAIS E MÉTODOS	12
RESULTADOS	14
DISCUSSÃO	16
CONCLUSÃO	17
REFERÊNCIAS	18
ANEXO 1	19
ANEXO 2	20

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta, minha orientadora a qual me incentivou a realizar este estudo. Agradeço por todos os ensinamentos, orientações e conselhos concebidos, pela oportunidade e paciência com a qual me ensinou. Seu exemplo profissional é uma grande inspiração para mim. Também agradeço pela amizade criada nestes anos de orientação.

Dedico também a meus pais e irmãos, os quais me deram todo o suporte para minha formação, todo o incentivo e apoio para eu chegar onde cheguei hoje, sem eles nada disso teria valor. Pelo amor e carinho, apesar da distância e pelos conselhos e força transmitidos durante esta caminhada que me ajudaram a prosseguir nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela estrutura, professores e funcionários que foram essenciais em minha formação e pelos ótimos momentos.

Agradeço ao Prof. Dr. Jaime Cury que prestou preciosas informações para a realização deste trabalho.

A aluna de pós graduação Amanda Falcão, pela ajuda neste trabalho.

Aos técnicos do laboratório de Bioquímica Oral da FOP-UNICAMP, Waldomiro Vieira Filho e José Alfredo da Silva, por estarem sempre a disposição para ajudar e pela agradável convivência.

Aos voluntários que participaram desta pesquisa, pois sem eles, esta seria inviável.

Ao PIBIC-CNPq, pela concessão da bolsa de iniciação científica.

A todos os amigos que fiz em Piracicaba, que se tornaram pessoas muito especiais e queridas.

Aos amigos da minha cidade natal, que sempre me incentivaram e apoiaram em todos os momentos.

E a toda minha família, que sempre esteve ao meu lado, me incentivando, torcendo e rezando, para que eu conseguisse vencer esta etapa e todas as outras anteriores. Por todo carinho e amor que sempre tiveram por mim.

INTRODUÇÃO

A utilização de dentifrícios fluoretados tem sido considerada um fator importante para o declínio de cárie dental ocorrida não só nos países desenvolvidos como nos em desenvolvimento, como é o caso do Brasil (Bratthall et al., 1996; Cury et al., 2004). Esse mecanismo de ação combina a remoção mecânica do biofilme com a liberação do fluoreto na cavidade oral (Tenuta e Cury, 2013).

Devido a medidas de saúde bucal adotadas em grande escala populacional, no ano de 2001, o Brasil registrou redução na prevalência e gravidade de cárie dental em crianças e adolescentes e desde então, o fluoreto vem sendo utilizado como instrumento eficaz e seguro na prevenção e controle de cárie dentária, tendo papel estratégico nesta redução.

Para ser efetivo, a concentração de F nas formulações deve ser de 1000 ppm F ou mais (Walsh et al., 2010). Além disso, o F deve estar solúvel, na forma iônica ou ionizável, para ser capaz de interferir com o processo de cárie dental. Nos dentifrícios a base de NaF, todo o F está na forma iônica, enquanto que no dentifrício a base de MFP, o F é ligado covalentemente ao fosfato, e precisa ser hidrolisado na cavidade bucal pelas enzimas fosfatases. Formulações a base de MFP permitem o uso do carbonato de cálcio (CaCO_3) como abrasivo, que diminui o custo dessa formulação em muitos países em desenvolvimento (Petersen e Lennon et al, 2004). Por outro lado, formulações a base de NaF precisam usar a sílica como abrasivo, a qual é inerte. O MFP pode hidrolisar-se vagorosamente dentro do tubo de dentifrício e reagir com o Ca presente no abrasivo, resultando em até 20% de F insolúvel preso ao cálcio (Cury et al., 2010). Tais formulações têm sido testadas por sua disponibilidade e estabilidade em F solúvel (Cury et al., 2010; Ricomini Filho et al., 2012). No entanto, a eficácia deve ser avaliada quanto à capacidade de manter F solúvel disponível na cavidade oral e liberar F iônico.

Poucos estudos têm avaliado a disponibilidade de F na cavidade oral após o uso de dentifrícios a base de NaF ou MFP. Bruun et al., 1984, avaliou a cinética da hidrólise do MFP na saliva após a escovação com dentifrícios que continham NaF ou MFP, ambos com a sílica como abrasivo. Os resultados mostraram que o dentifrício a base de MFP, obteve baixos níveis de F iônico inicialmente, quando comparados

com a formulação a base de NaF. Porém 10 minutos após a escovação com o dentifrício a base de MFP, os níveis de F aumentaram para 60%, indicando a hidrólise do MFP. Além desse estudo, não há nenhum outro que avaliou a cinética da concentração de F na saliva, especialmente considerando a formulação mais comum disponível no Brasil, a qual contém o abrasivo a base de cálcio. Portanto, o objetivo do presente estudo foi determinar a concentração do F solúvel na saliva, na forma de íon ou MFP, após o uso das formulações mais vendidas no Brasil contendo NaF/silica ou MFP/CaCO₃.

PROPOSIÇÃO

O objetivo do estudo foi determinar a concentração de F solúvel na saliva, na forma iônica ou de MFP, após o uso de dentifrícios a base de NaF/silica ou MFP/CaCO₃ mais vendidos no Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo in vivo, cego (considerando as análises), aleatório e cruzado, (ClinicalTrials.gov identifier: NCT01589458), foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade de Campinas, e os voluntários assinaram o termo de esclarecimento e consentimento para participar. Doze voluntários adultos, apresentando boa saúde geral e bucal, foram aleatoriamente atribuídos a um dos grupos de tratamento: a. dentifrício não fluoretado (controle negativo), b. dentifrício a base de NaF/SiO₂ (Colgate Total 12 Clean Mint[®], Colgate-Palmolive, São Paulo, Brazil) e c. dentifrício a base de MFP/CaCO₃ (Sorriso Dentes Brancos[®], Colgate-Palmolive), ambos apresentando 1450 µg F/g de F total. Não era possível distinguir os diferentes sabores dos dentifrícios que estavam sendo usados. Em cada fase experimental, os voluntários escovaram seus dentes com 1 g de dentifrício, por 1 min, e depois bochecharam com 10 ml de água purificada por 10 seg. Saliva não estimulada foi coletada (durante 3 minutos) antes e 5, 15, 30, 45 e 60 minutos após a escovação, para

determinar a concentração de F iônico e solúvel total usando um eletrodo íon-seletivo.

Dentifrícios

A concentração de F nas formulações foi determinada usando um protocolo previamente descrito (Cury et al., 2010, Ricomini-Filho et al., 2012), esse método permite a distinção entre F total, iônico e ionizável (como o MFP) e insolúvel.

A concentração de F foi avaliada usando um eletrodo para F (Orion model 96-09; Orion Research, Cambridge, MA, USA) acoplado a um analyzer (Orion EA-740). O eletrodo foi calibrado com padrões de F e uma regressão linear entre as concentrações presentes nos padrões e na mV construída no software Excel (Microsoft), o qual foi usado para calcular a concentração de F em cada formulação de dentifrício expressada em $\mu\text{g F/g}$.

Procedimentos clínicos

Os voluntários usaram dentifrício placebo entre as 3 fases experimentais, e 2 dias antes de cada fase, utilizaram o dentifrício a ser testado. No dia das coletas de saliva, mantinham jejum de água e alimentos.

Em todas as fases, foi realizado uma coleta inicial de saliva (baseline), após a coleta, os voluntários escovaram os dentes por 1 minuto com 1 grama do dentifrício teste, realizaram o enxágüe com 10 mL de água purificada durante 10 segundos, e então as coletas foram realizadas 5, 15, 30, 45 e 60 minutos após a escovação.

As amostras de saliva foram mantidas em gelo e centrifugadas em até 1 hora após a coleta, para posterior análise de F.

Determinação de flúor nas amostras de saliva

As amostras de saliva foram centrifugadas por 10 minutos a 3000 rpm e subseqüentemente, foram preparadas de acordo com o tipo de F a ser examinado:

- Flúor solúvel total (MFP+flúor iônico): para 0,25 ml de sobrenadante foi adicionado 0,25 ml de HCl 2M. Após vortexar, a mistura foi colocada em banho-maria a 45⁰C por 1 hora, para permitir a hidrólise do MFP. Após esse período, foi adicionado 0,5 ml de NaOH 1M e 1 ml de TISAB II, após vortexar novamente, a mistura final foi analisada para concentração de F.
- Flúor iônico: em 0,25 ml de sobrenadante foi adicionado 1 ml de TISAB II, 0,5 ml de NaOH 0,5M e 0,25 ml de HCl 2M. A mistura foi imediatamente vortexada e analisada quanto à concentração de F.

Para essas análises, foi utilizado um eletrodo íon-específico (Orion 96-09) acoplado a um íon analyzer (Orion EA-940). A concentração de F nas amostras foi calculada por regressão linear determinada por padrões de F conhecidos (preparados nas mesmas condições das amostras).

Análise estatística

Os dados de concentração de fluoreto na saliva, nos diferentes tempos, foram comparados entre os dentifrícios, utilizando análise de variância, considerando os voluntários como blocos estatísticos. O nível de significância de 5% foi adotado na análise estatística.

RESULTADOS

A Tabela 1 mostra a concentração de F presente nos dentifrícios testados. Os 2 dentifrícios fluoretatos apresentaram concentrações similares de flúor total, mas no dentifrício a base de MFP/CaCO₃ aproximadamente 20% estava na forma insolúvel. Em relação a concentração salivar de F após a escovação, nenhuma diferença foi encontrada entre flúor solúvel e iônico após o uso da formulação a base de NaF/silica, independente do tempo (figura 1) ($p > 0,05$). A concentração salivar máxima de F encontrada foi 5 minutos após a escovação (figura 1), mas 60 minutos após a escovação, a concentração salivar de F ainda foi maior comparada com os valores do baseline ($p < 0,05$).

Após o uso do dentifrício a base de MFP/CaCO₃, o flúor solúvel total não diferiu dos resultados de NaF/silica (p>0,05) (figura 1). No entanto, a concentração de flúor iônico foi significativamente baixa (p<0,05), com aproximadamente 30% de flúor solúvel total na forma iônica aos 5 minutos (figura 2). Esse percentual de flúor iônico aumentou gradativamente para aproximadamente 85% de flúor solúvel total disponível aos 60 minutos (figura 2).

Tabela 1. Concentração de Flúor total, solúvel total e iônico presente nos dentifrícios estudados.

Formulação	Flúor Total ($\mu\text{g F/g}$)	Flúor Solúvel Total ($\mu\text{g F/g}$)	Flúor Iônico ($\mu\text{g F/g}$)
NaF/SiO ₂	1448.9 \pm 22.7	1422.1 \pm 21.6	1442.1 \pm 27.7
Na ₂ FPO ₃ /CaCO ₃	1454.7 \pm 19.7	1361.1 \pm 28.7	73.9 \pm 15.5
Não-Fluoretado	9.9 \pm 0.5	9.6 \pm 0.1	9.6 \pm 0.7

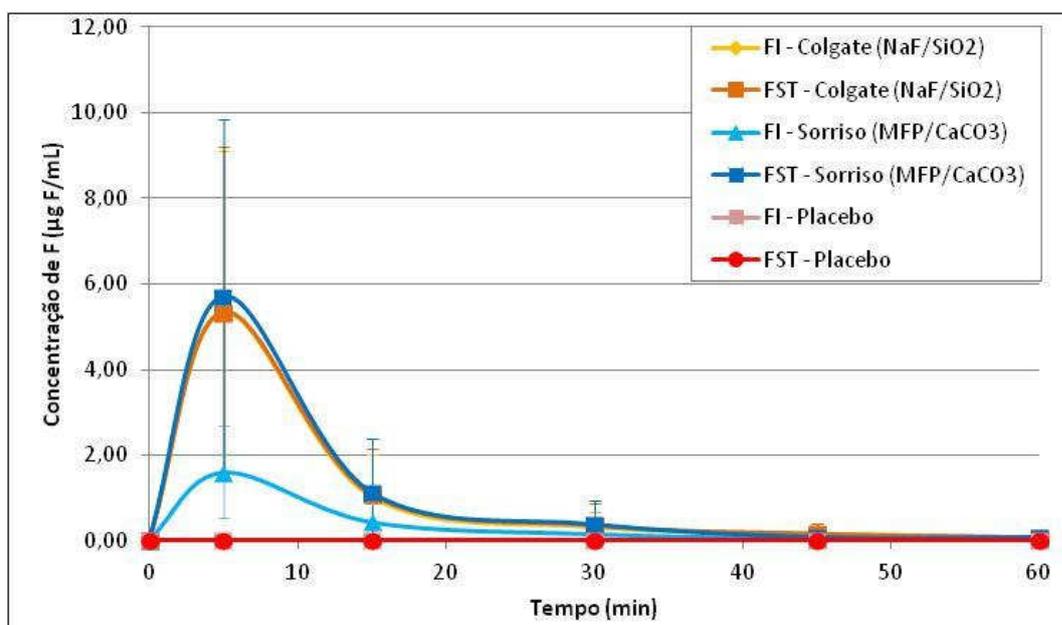


Figura 1. Concentração salivar de Flúor Solúvel Total (FST) e Flúor Iônico (FI) ($\mu\text{g F/mL}$) conforme o tratamento e o tempo. Média \pm DP, n=12.

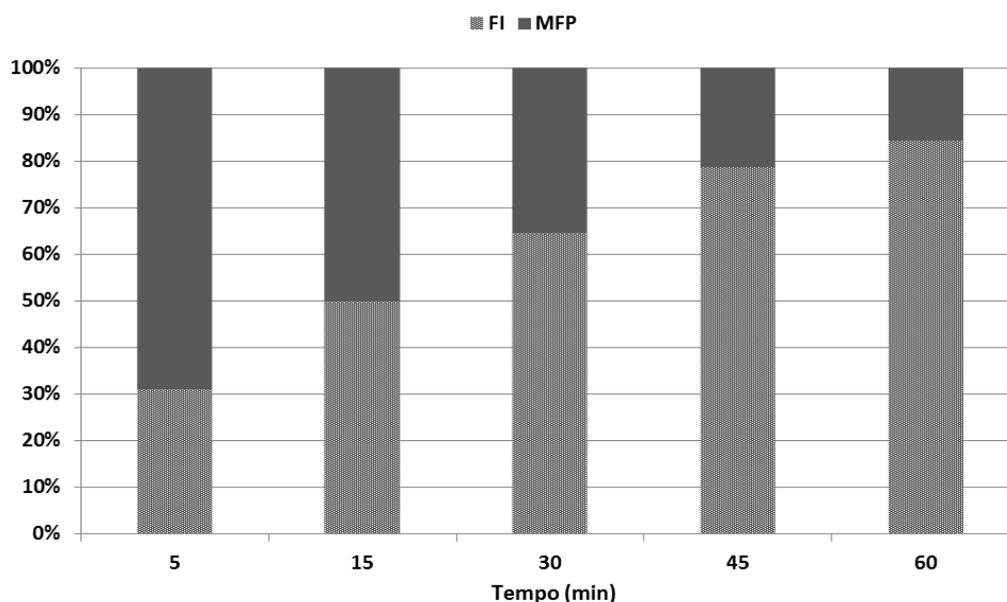


Figura 2. Porcentagem de MFP e Flúor iônico na saliva em função do tempo (min) após a escovação com com dentifrício a base de MFP/CaCO₃.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o efeito de diferentes compostos ativos nos dentifrícios e suas concentrações salivares de F após a escovação. Ambos os dentifrícios, a base de NaF e MFP, foram capazes de elevar a concentração de F na saliva, por mais de 1 hora após a escovação.

Segundo Brunn et al. [1984], a semelhança dos níveis de F total e F iônico após o uso de dentifrícios a base de NaF sugere que este flúor seja pronto e para agir com a superfície dental. Já os níveis baixos de F iônico após o uso de dentifrício a base de MFP é explicável pela necessidade deste sofrer hidrólise para liberar o F iônico.

Os achados neste estudo suportam a idéia de que os dentifrícios fluoretados são muito importantes no controle de cárie dental, e além disso, explicam as reduções nos índices de cárie obtidos até o presente momento (Narvai et al., 2000 e Brasil, Ministério da Saúde, 2011), devido ao uso dos mesmos (Cury et al., 2004). Este conhecimento, junto com a redução nos níveis de cárie dental alcançados utilizando dentifrícios fluoretados (Thylstrup et al., 1982; Cury et al.,

2004) sugerem que as elevadas concentrações de F na saliva observadas neste estudo, possuem capacidade anticárie considerável. Este potencial anticárie, está totalmente conectado com os níveis de F na saliva causados pelo uso de dentifrícios fluoretados.

A partir deste estudo, foi possível notar, que os compostos ativos NaF e MFP, são capazes de prevenir a cárie, já que ambos aumentam a concentração de F solúvel na saliva, por períodos de até 60 minutos.

CONCLUSÃO

Os resultados sugerem que os dentifrícios mais vendidos no Brasil são capazes de aumentar a concentração de F na saliva, interferindo continuamente com o processo de cárie dental.

REFERÊNCIAS

1. Bratthall D, Hänsel-Petersonn G, Sundberg H: Reasons for the caries decline: what do experts believe? *Eur J Oral Sci* 1996; 104: 416–422.
2. Cury JA, Tenuta LM, Ribeiro CC, Paes Leme AF: The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. *Braz Dent J* 2004; 15: 167–174.
3. Cury JA, Tenuta LMA: Laboratory and human studies to estimate anticaries efficacy of Fluoride toothpastes. *Monogr Oral Sci* 2013; 23: 108-124.
4. Cury JA, Tenuta LM, Ribeiro CC, Paes Leme AF: The importance of fluoride dentifrices to the current dental caries prevalence in Brazil. *Braz Dent J* 2004; 15: 167–174.
5. Petersen PE, Lennon MA: Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st century: the WHO approach. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004; 32: 319–321.
6. Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Moi GP, Silva WJ, Cury JA: Kinetics of monofluorophosphate hydrolysis in a bacterial test plaque in situ. *Caries Res* 2010; 44: 55–59.
7. Ricomini Filho AP, Tenuta LMA, Cury JA: Author's reply – Comments by Dr. Benzian et al. (2012) on the paper 'Fluoride concentration in the top-selling Brazilian toothpastes purchased at different regions'. *Braz Dent J* 2012; 23: 312–314.
8. Narvai PC, Castellanos RA, Frazão P. Prevalência de cárie em dentes permanentes de escolares do município de São Paulo, SP, 1970-1996. *Rev Saúde Pública* 2000; 34:196-200.
9. Brasil, Ministério da Saúde. SB Brasil 2010: pesquisa nacional de saúde bucal – resultados principais. 2011.
10. Bruun C, Givskov H, Thylstrup A: Whole saliva fluoride after toothbrushing with NaF and MFP dentifrices with different F concentrations. *Caries Res* 1984; 18: 282–288.

ANEXOS

1. 20/9/2014 Comitê de Ética em Pesquisa - Certificado



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

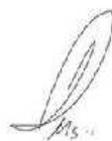


CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "**Disponibilização de fluoreto na saliva após o uso de dentífricos contendo NaF ou MFP**", protocolo nº 080/2011, dos pesquisadores Livia Maria Andaló Tenuta e Heloisa Navarro Pantaroto, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 03/08/2011.

The Ethics Committee in Research of the Piracicaba Dental School - University of Campinas, certify that the project "**Fluoride availability in saliva after use of NaF or MFP dentifrices**", register number 080/2011, of Livia Maria Andaló Tenuta and Heloisa Navarro Pantaroto, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee on Aug 03, 2011.


Prof. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta
Secretária
CEP/FOP/UNICAMP


Prof. Dr. Jacés Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece assim fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notes: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

2. Sistema Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UNICAMP



Universidade Estadual de Campinas
Pró-Reitoria de Pesquisa
Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC
Caixa Postal 6197
13083-970, Campinas, SP
Tel (019) 3521-4891
Fax (019) 3521-4892

Declaração

Declaro para os devidos fins, que o/a aluno/a **HELOÍSA NAVARRO PANTAROTO**, RA 108320, foi bolsista junto ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq, com bolsa vigente no período de 01/02/2012 a 31/07/2012, sob a orientação do/a Prof./a Dr./a LIVIA MARIA ANDALO TENUTA (Faculdade de Odontologia - FOP, UNICAMP) para o desenvolvimento do Projeto "Potencial anticárie das formulações de dentífrico mais usadas no Brasil".

Pró-Reitoria de Pesquisa, 11 de setembro de 2014.


Mirian Cristina Marcançola
PRP / PIBIC - Unicamp
Matr. 299062