



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Campus de Araçatuba

Departamento de Odontologia Infantil e Social

Anelise de Souza Ishikawa

Avaliação in situ da efetividade de um
dentifrício com concentração reduzida de
fluoreto e suplementado com trimetafosfato de
sódio, xilitol e eritritol sobre o processo de
desmineralização dentária

Araçatuba-SP

2018

Anelise de Souza Ishikawa

Avaliação in situ da efetividade de um
dentifrício com concentração reduzida de
fluoreto e suplementado com trimetafosfato de
sódio, xilitol e eritritol sobre o processo de
desmineralização dentária

Trabalho de Conclusão de Curso
como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Bacharel em
Odontologia da Faculdade de
Odontologia de Araçatuba,
Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Titular. Alberto
Carlos Botazzo Delbem

Araçatuba-SP

2018

Dedicatória

Dedico este trabalho,

Aos meus pais Nilza Aparecida de Souza Ishikawa e Luiz Noboru Ishikawa, que me não mediram esforços para que eu realizasse o sonho de estudar e me formar em uma Universidade, muitas vezes abdicando de suas próprias vontades e sonhos para que eu pudesse ter uma boa formação profissional, minha eterna gratidão e amor, se cheguei até aqui foi por que eu tive toda ajuda, amor e apoio incondicionais de vocês. Saibam que os admiro muito e que me deixaram grandes valores os quais um dia pretendo passar aos meus filhos.

Agradecimentos Especiais

À Deus,

Que iluminou meu caminho e minha vida nesta jornada, que me deu saúde e força para superar as dificuldades, sem ele nada seria possível.

Aos meus irmãos,

Vítor e Lucas, vocês que sempre deram sentido à minha vida, trazendo alegrias, muito amor, carinho e companherismo, vocês são minha doce inspiração para viver, essa vitória eu também devo à vocês.

Aos meus avós,

Nelcina Rosa de Souza e José de Souza (*in memoriam*), que foram a base para que eu pudesse caminhar, sonhar, ter amor e todos os cuidados que uma criança necessita, em especial a minha avó, minha inspiração de mulher guerreira e melhor amiga, que entende o meu coração como ninguém, sei que foi Deus que uniu nossas almas, também ao meu avô posticho, Jorge Ichikawa, um ser humano de grandes valores e ações, por toda inspiração e conselhos para que eu estudasse e trilhasse um caminho honesto, à avó posticha, Massako Ichikawa, por todo o carinho, especialmente quando precisei morar com vocês.

Aos meus tios,

Gilson, Nilson, Everson, Milene, Célia, Cecilia, Ione e Takeshi, por toda ajuda para que eu conseguisse estudar, cada um no que pode, sou muito grata a vocês.

Às minhas amigas,

Simone, Larissa, Janaína, Mayra, que mesmo longe sempre se fizeram presente me dando força e apoio.

A minha amiga,

Waneska, um verdadeiro anjo que Deus colocou em minha vida, sem você a vida em Araçatuba teria sido muito mais difícil, sou muito grata e levarei para sempre a nossa amizade.

As amigas companheiras de casa,

Camila e Tais, por todo o apoio, ombro, conselhos e amizade, vocês me ajudaram muito nessa jornada.

A professora e amiga Marcelle Danelon,

Por ter me inspirado enquanto professora da minha turma e também por toda orientação, dedicação, ensinamentos, compreensão e por toda ajuda nos momentos difíceis, a você, minha eterna gratidão e carinho.

Aos Voluntários desta pesquisa,

Sem vocês não teria conseguido finalizar esta pesquisa tão importante. A ajuda de cada um foi fundamental.

A Banca Examinadora,

Agradeço a vocês por se disporem a estar presente neste dia que conclui uma grande jornada. A vocês meu muito obrigada pelas dicas, correções, indicações e considerações que guiaram a confecção final deste trabalho. Foi uma honra e um prazer imenso dividir essa caminhada com vocês.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba,

Na pessoa dos professores Dr. Wilson Roberto Poi, digníssimo Diretor e Dr. João Eduardo Gomes Filho, digníssimo Vice-Diretor.

Aos Pacientes,

Diante da minha inexperiência, vocês se mostraram pacientes e compreensivos. A vocês que me aceitaram sem terem me escolhido, que assistiram com tanta paciência os meus primeiros passos e que com um singelo sorriso demonstraram tamanha satisfação perante meu trabalho, fazendo me sentir vitoriosa e orgulhosa por ter aprendido a lição. Obrigada a vocês, meus pacientes, graças a todos deixo de ser acadêmica e passo a ser uma profissional da odontologia!

Ao Frigorífico Friboi,

Que permitiu a coleta dos dentes bovinos.

À todos os professores,

Pelos ensinamentos que foram ministrados e pela dedicação, contribuindo para minha formação profissional.

E a todos aqueles que, de alguma forma contribuíram para a elaboração e conclusão deste trabalho,

Minha eterna gratidão.

Epígrafe

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos.”.

Marcel Proust

Ishikawa, A.S. Avaliação *in situ* da efetividade de um dentifrício com concentração reduzida de fluoreto e suplementado com trimetafosfato de sódio, xilitol e eritritol sobre o processo de desmineralização dentária. 2018. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2018.

RESUMO

Objetivo: O objetivo do presente estudo foi avaliar, *in situ*, a capacidade uma formulação dentifrícia com concentração reduzida de F (200 ppm) e TMP (0,2%) associado ao Xilitol (X: 16%) e Eritritol (E: 4%) em reduzir a desmineralização do esmalte. Este estudo foi duplo-cego e cruzado, realizado em 4 fases experimentais com duração de 7 dias cada. Voluntários (n=12) utilizaram dispositivos palatinos, contendo 4 blocos de esmalte selecionados pela dureza de superfície inicial (SHi). O desafio cariogênico foi realizado com sacarose a 30% (6×/dia). Os regimes de tratamentos foram: 1) dentifrício sem F/TMP/X/E (Placebo); 2) dentifrício com 16% Xilitol e 4% Eritritol (XE); 3) dentifrício com 200 ppm F, 0,2% TMP, 16% Xilitol e 4% Eritritol (200F/TMP/XE) e 4) dentifrício com 1100 ppm F (1100F). Após cada fase determinou-se a dureza de superfície final (SHf) para o cálculo da porcentagem de perda de dureza de superfície (%SH) e a perda integrada de dureza de subsuperfície (Δ KHN). Os dados foram submetidos a ANOVA de medidas repetidas, seguido pelo teste Student-Newman-Keul's ($p < 0,001$). O uso de 200F/TMP/XE e XE resultou em uma diminuição de 32% e 19% na %SH em comparação com 1100F. Além disso, a capacidade de reduzir o corpo da lesão (Δ KHN) foi ~ 90% maior com 200F/RMP/XE ($p < 0,001$) quando comparado com 1100F. Concluiu-se que a associação de Trimetafosfato de sódio, Xilitol e Eritritol e a um dentifrício com concentração reduzida de fluoreto, produziu maior efeito protetor contra a desmineralização quando comparado ao dentifrício 1100F.

Palavras-chave: Dentifrício; Fluoreto; Fosfato; Xilitol; Eritritol; Desmineralização.

Ishikawa, A.S. *In situ* evaluation of the effectiveness of a dentifrice with reduced concentration of fluoride and supplemented with sodium trimetaphosphate, xylitol and erythritol on the dental demineralization process. 2018. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2018.

Abstract

Objective: The objective of the present study was to evaluate *in situ* the capacity of a dentifrice formulation with reduced concentration of F (200 ppm) and TMP (0.2%) associated with Xylitol (X: 16%) and Erythritol (E: 4%) in reducing the enamel demineralization. This study was double-blind and cross-over, performed in 4 experimental phases lasting 7 days each. Volunteers (n = 12) used palatine devices, containing 4 enamel blocks selected by the initial surface hardness (SHi). The cariogenic challenge was performed with 30% sucrose (6×/day). The regimens of treatments were: 1) without F/TMP/Xylitol/Erythritol toothpaste (Placebo); 2) 16% Xylitol and 4% Erythritol toothpaste (XE); 3) 200 ppm F, 0.2% TMP, 16% Xylitol and 4% Erythritol toothpaste (200F/TMP/XE) and 4) 1100 ppm F toothpaste (1100F). After each phase the final surface hardness (SHf) was determined for the calculation of the percentage of surface hardness loss (% SH) and the integrated loss of subsurface hardness (Δ KHN). Data were submitted to repeated measures ANOVA, followed by Student-Newman-Keul's test ($p < 0.001$). The use of 200F/TMP/XE and XE resulted in a decrease of 32% and 19% in SH% as compared to 1100F. In addition, the ability to reduce the body of the lesion (Δ KHN) was ~ 90% higher with 200F/TMP/XE ($p < 0.001$) when compared to 1100F. It was concluded that the association of Sodium trimetaphosphate, Xylitol and Erythritol a toothpaste with reduced concentration of fluoride, produced a greater protective effect against demineralization when compared to the 1100F toothpaste.

Keywords: Toothpaste; Fluoride; Phosphate; Xylitol; Erythritol; Demineralization.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tabela 1. Valores de fluoreto (FI), (FT) e pH (média $\pm$ dp) de acordo com os Dentifrícios Experimentais	26
Tabela 2	Média (DP) das variáveis do esmalte (%SH e Δ KHN) de acordo com os Dentifrícios Experimentais	27

Lista de abreviaturas

°C Graus Celsius

Ca²⁺ Íon Cálcio

F Fluoreto

dp Desvio padrão

FI Fluoreto iônico

FT Fluoreto total

KHN Unidade de dureza Knoop

HCl Ácido clorídrico

mg Miligrama

mL Mililitro

mol/L⁻¹ Mol por litro

mV Milivolts

µg F/mL Micrograma de fluoreto por mililitro

SHi Dureza de superfície inicial

SHf Dureza de superfície final

%SH Porcentagem de perda de dureza de superfície

X Xilitol

E Eritritol

TMP Trimetafosfato de sódio

TISAB Tampão ajustador de força iônica total

µg Micrograma

NaF Fluoreto de sódio

NaOH Hidróxido de sódio

pH Potencial de hidrogênio

s Segundo

n Número de amostra

L Litro

M Molar

g Grama

Δ KHN Perda integrada de dureza de subsuperfície

DF Dentifrício fluoretado

ppm partes por milhão

Sumário

1. Introdução	17
2. Objetivo	19
3. Metodologia	21
3.1 <i>Delineamento Experimental</i>	21
3.2 <i>Preparação dos Blocos de Esmalte</i>	231
3.3 <i>Formulação, Dosagem de FI, FT e pH nos Dentifrícios Experimentais</i>	22
3.4 <i>Descrição da Fase Clínica dos Grupos Experimentais</i>	23
3.5 <i>Determinação da Dureza do Esmalte</i>	24
3.6 <i>Análise Estatística</i>	245
4. Resultados.....	26
5. Discussão	28
6. Conclusão	31
7. Agradecimentos	31
8. Referências Bibliográficas.....	32
9. Anexos	37

1. Introdução

A cárie dentária é uma doença multifatorial que tem acompanhado a humanidade ao longo da história. Resulta da colonização da superfície do esmalte por microrganismos, especialmente os *Streptococcus mutans* que, metabolizando carboidratos fermentáveis, principalmente sacarose, produzem ácidos, que desmineralizam a superfície dentária [Forssten et al., 2010]. O uso regular de dentifrícios fluoretados (DF) comprovadamente auxilia no controle da cárie [Marinho, 2009], desde que o produto apresente em sua formulação ao menos 1000 ppm F [Walsh et al., 2010]. Este efeito se relaciona a proteção conferida pelo fluoreto (F), sendo utilizado de maneira frequente e regular [Bratthall et al., 1996]. No entanto, o uso indiscriminado de DF por crianças em período de desenvolvimento dental foi considerado como um fator de risco para fluorose dentária [Mascarenhas, 2000]. Crianças menores de 6 anos podem ingerir em média 57% (variando de 17 a 98%) de dentifrício colocado na escova, pois nessa faixa etária o reflexo da expectoração ainda não está totalmente desenvolvido [Lima & Cury, 2001]. Assim, em crianças durante o período de desenvolvimento dental, do nascimento aos 6 anos de idade, o uso de dentifrícios fluoretados tem sido considerado como um fator de risco para a fluorose dentária [Mascarenhas & Burt, 1998].

Dessa forma, várias recomendações têm sido propostas a fim de reduzir a incidência de fluorose, a saber: escovação supervisionada, pequenos orifícios nas embalagens e uso de pequenas quantidades dos dentifrícios convencionais [Lima & Cury, 2001; Hamilton, 2001; Hall et al., 2016]. Entretanto, estudos *in vivo* e *in situ* mostram que reduzir a quantidade de dentifrícios leva a uma menor disponibilidade de fluoreto para o meio bucal [Zero et al., 2010; Hall et al., 2016; Paiva et al., 2017] podendo influenciar a experiência de cárie dos indivíduos [Zero et al., 2010]. Outra maneira de reduzir a ingestão de F pelas crianças seria a utilização de dentifrícios com concentração reduzida de F (DCRF), porém sua eficácia e efetividade anticariogênica deve ser aumentada para ser comparável a de um dentifrício padrão de mercado (1100 ppm F), uma vez que alguns estudos mostraram que dentifrícios contendo 250 ppm F são menos efetivos que aqueles contendo 1100 ppm F na prevenção de cárie [Koch et al., 1982; Mitropoulos et al., 1984]. Para que um dentifrício fluoretado seja eficiente, alguns requisitos mínimos são necessários como: presença de fluoreto solúvel, concentração suficiente,

estabilidade e biodisponibilidade do fluoreto e a sua capacidade em inibir a desmineralização e ativar a remineralização do esmalte [ADA, 1985].

Em contrapartida, é possível obter-se o aumento na eficácia de formulações com metade e até mesmo $\frac{1}{4}$ da concentração de F encontrada em dentifrícios com 1100 ppm F por meio da adição de fosfatos inorgânico e orgânico [da Camara et al., 2014; Freire et al., 2016; Missel et al., 2016]. Como produtos de suplementação, o trimetafosfato de sódio (TMP) tem sido extensivamente estudado, devido suas propriedades anticariogências [Takeshita et al., 2009; Manarelli et al., 2013; Danelon et al., 2014; Takeshita et al., 2015; Takeshita et al., 2016]. Estudos sugerem que o TMP pode estar relacionado com uma ação local, sendo adsorvido à superfície do esmalte, causando uma redução na solubilidade da hidroxiapatita e reduzindo as trocas minerais entre o meio e o esmalte [Takeshita et al., 2009; Danelon et al., 2014; Takeshita et al., 2015; Takeshita et al., 2016]. Missel et al. [2016] avaliaram *in vitro* a associação de TMP nas concentrações de 0,25% a 1,0 em dentifrícios com reduzida concentração de fluoreto (250 ppm F) sobre a desmineralização do esmalte. Os autores concluíram que essa associação proporcionou ação semelhante à de um dentifrício padrão (1100 ppm F) em reduzir a desmineralização do esmalte dentário.

Produtos naturais também são conhecidos como uma potencial fonte de agentes terapêuticos que podem ser utilizados na prevenção da cárie dentária, pois apresentam efeito sobre os microrganismos do biofilme. O Xilitol (X) e Eritritol (E) são poliálcoois utilizados como substituto do açúcar em muitos produtos de cuidados bucais. Não são cariogênicos e apresentam efeitos favoráveis sobre a saúde bucal [Maguire & Rugg-Gunn, 2003; Runnel et al., 2013]. O Xilitol diminui a acidogenicidade do biofilme e o volume da placa, sendo capaz de inibir o crescimento de *S. mutans* [Söderling, 2009; Söderling & Hietala-Lenkkeri, 2010]. Têm sido incorporados principalmente em gomas de mascar, dentifrícios, vernizes e soluções para bochecho, apesar de estudos com dentifrícios contendo Xilitol mostrarem efeitos contraditórios sobre a saliva, placa dental e incidência de cárie [Bagramian et al., 2009; Mercenes et al., 2010]. Quando associado ao F apresenta ação adicional quando comparado ao F sozinho [Cardoso et al., 2014; Cardoso et al., 2016]. Sua ação na remineralização provavelmente é devida a capacidade de formar complexos com íons cálcio na superfície dentária, inibindo a translocação de cálcio e fosfato dissolvidos durante a desmineralização [Arends

et al., 1984; Arends et al., 1990]. Entretanto, uma Revisão Sistemática desenvolvida recentemente, mostrou que mais estudos devem ser conduzidos para avaliar efetivamente o efeito do Xilitol sobre a cárie dentária [Riley et al., 2015], o que também é suportado pela American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD) [2017/2018]. O Eritritol também demonstra atividade antimicrobiana e pode estar associado a outros açúcares. Söderling & Hietala-Lenkkeri [2010] um estudo *in vitro*, investigaram a inibição do crescimento e aderência de células a uma superfície de vidro lisa utilizando 2% ou 4% de Eritritol e Xilitol, demonstrando que o Eritritol diminui a aderência de estreptococos orais formadores de polissacarídeos (14 estirpes testadas: *S. mutans* (9), *S. sanguinis* (2), *S. salivarius* (2) e *S. sobrinus* (1). Park et al. [2014] avaliaram o mecanismo pelo qual o Eritritol inibe o crescimento e reduz a aderência de *S. mutans* através da avaliação de perfis de expressão de genes de glicosiltransferase (GTF) e frutossiltransferase (FTF) em *S. mutans*. Esses genes envolvidos no metabolismo da sacarose, facilitam a polimerização de glicose livre e frutose em glucanos e frutanos, respectivamente, que, por sua vez, atuam como uma fonte de energia e barreira protetora contra toxinas bacterianas e são envolvidos na promoção da adesão de bactérias às superfícies dentárias, considerando dessa forma o Eritritol como potencial anticariogênico.

Apesar da existência de inúmeras estratégias preventivas para reduzir a cárie dentária, ainda existem populações infantis que concentram uma alta prevalência da doença [Narvai et al., 2006]. Sabendo-se da ausência de estudos que avaliem o efeito do Xilitol e Eritritol (em associação) em dentifrícios, sobre a microbiota bucal e desmineralização do esmalte, bem como os bons resultados obtidos com os dentifrícios com concentração reduzida de fluoreto contendo TMP, seria interessante testar uma formulação contendo estes ativos com objetivo de melhorar o efeito anticárie dos dentifrícios, principalmente quando utilizado por pacientes que apresentam alta incidência da lesão.

2. Objetivo

Avaliar, *in situ*, a capacidade uma formulação dentifrícia com concentração reduzida de F (200 ppm) e TMP (0,2%) associado ao Xilitol (X:16%) e Eritritol (E: 4%) em reduzir a desmineralização do esmalte.

A hipótese nula do estudo foi a de que o dentifrício com 200 ppm F/TMP/X/E apresentaria similar capacidade anticariogênica quando comparado ao dentifrício contendo 1100 ppm F.

3. Metodologia

3.1 Delineamento Experimental

O estudo foi duplo-cego e cruzado consistindo em quatro fases com duração de 7 dias cada e washout de 7 dias entre uma etapa e outra, para eliminar possíveis efeitos residuais dos tratamentos [Delbem et al., 2010; do Amaral et al., 2013]. O estudo foi inicialmente submetido ao Comitê de Ética de Pesquisas em Humanos pela Plataforma Brasil (CAAE: 83733318.0.0000.5420-Anexo A). Doze voluntários com idade entre 18 e 33 anos e boa saúde geral e bucal e com fluxo salivar normal foram selecionados. Blocos de esmalte (4 mm × 4 mm, n = 192) foram obtidos de dentes incisivos bovinos e mantidos em solução de formol a 2%, pH 7,0 durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental [Delbem & Cury, 2002]. Esses blocos tiveram sua superfície de esmalte polida, permitindo sua seleção através da determinação da dureza de superfície inicial (SHi). A seguir confeccionou-se dispositivos para a arcada superior com quatro espaços (4 mm × 4 mm), nos quais foram fixados quatro blocos de esmalte bovino. Os desafios cariogênicos foram produzidos pelo uso de solução de sacarose a 30% [do Amaral et al., 2013]. Os voluntários foram orientados a escovar os dentes com o dispositivo palatino na cavidade bucal (3x/dia) utilizando os dentifrícios: 1) dentifrício sem F/TMP/Xilitol/Eritritol (Placebo); 2) dentifrício com 16% Xilitol e 4% Eritritol (XE); 3) dentifrício com 200 ppm F, 0,2% TMP, 16% Xilitol e 4% Eritritol (200F/XE/TMP) e 4) dentifrício com 1100 ppm F (1100F). Após cada período experimental, determinou-se a dureza de superfície final (SHf), para o cálculo da porcentagem da perda de dureza de superfície (%SH) e dureza em secção longitudinal para o cálculo da perda integrada de dureza de subsuperfície (Δ KHN). Para análise estatística, foram considerados como variáveis os valores de %SH e Δ KHN e, como fator de variação, os dentifrícios experimentais.

3.2 Preparação dos Blocos de Esmalte

Foram utilizados dentes incisivos centrais inferiores permanentes obtidos de bovinos com idade entre 2 e 3 anos e mantidos em recipientes plásticos com solução de formol a 2% pH 7,0 durante 1 mês. Blocos de esmalte bovino (4 mm x 4 mm, n=192) foram obtidos a partir da porção mais plana da vestibular das coroas. Após a obtenção dos blocos de esmalte, a dentina foi ajustada para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina (espessura $\pm$ 2 mm). Os blocos

foram fixados em discos de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 8 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (Cera Bastão Kerr ou Cera em Bastões Horus), com a superfície dentinária voltada para cima, sendo este conjunto levado à politriz BETA – grinder polisher (Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA). Para o desgaste foram utilizadas lixas de granulação 320 (CARBIMET Paper Discs, 30-5108-320, BUEHLER), peso de 2 lbs, durante 30 segundos sob baixa rotação e refrigeração. Em seguida, os blocos foram removidos e fixados novamente com a superfície do esmalte voltada para cima e polidos de acordo com a seguinte sequência: lixa de granulação 600, 4 lbs, tempo de 30 segundos, refrigeração a água; lixa de granulação 800, 4 lbs, tempo de 30 segundos, refrigeração a água; lixa de granulação 1200, 4 lbs, 30 segundos, refrigeração a água. Entre cada polimento, os corpos de provas foram submetidos ao ultra-som (BRANSON 2210), em água deionizada durante 2 minutos. Na sequência o esmalte foi polido com papel feltro para polimento (Polishing Cloth BUEHLER 40-7618) e suspensão de diamante (METADI Diamond Suspension 1 micron Blue Color Polish Spray, Water Base 40-6530), 4 lbs, 1 minuto. A seguir, os corpos de provas foram lavados com jato de água deionizada durante 30 segundos e submetidos ao ultra-som (BRANSON 2210), durante 2 minutos, imersos em solução de limpeza (ULTRAMET Sonic Cleaning Solution, BUEHLER) diluída na proporção 20:1 em água destilada. Durante todos os procedimentos e entre um passo e outro, os blocos foram mantidos em ambiente umedecido com formol 2% pH 7,0 [Vieira et al., 2005] (Anexo B).

3.3 Formulação, Determinação do pH e Concentração de F nos Dentifrícios Experimentais

Os dentifrícios foram manipulados pela empresa *Xlear Incorporation, American Fork, UT, USA*, contendo em sua composição Xilitol (X), Eritritol (E), Trimetafosfato de sódio (TMP) e Fluoreto de sódio na concentração de 200 ppm F e 1100 ppm F. Um dentifrício sem adição de F/TMP/X/E (Placebo) foi preparado.

Para determinação do pH cada dentifrício foi suspenso com água deionizada na proporção 1:3 (peso:peso) e realizou-se a leitura através do eletrodo de pH (Orion 290A, Orion Research Inc., Boston, EUA), sob agitação constante. O F dos dentifrícios foi dosado de acordo com o método descrito por Delbem et al. [2002]. Inicialmente pesou-se 100-110 mg de cada dentifrício, em triplicata, em tubos de polipropileno aos quais foram acrescentadas água deionizada até

volume final de 10 mL. Após homogeneização, para a dosagem de fluoreto total (FT), 0,25 mL dessa suspensão foi mantida sob agitação durante 1h a 45°C com 0,25 mL de HCl 2 mol L⁻¹. Em seguida neutralizou-se com 0,5 mL de NaOH mol L⁻¹ acrescido de 1,0 mL de TISAB II (Tampão ajustador de força iônica total). Para a dosagem de FT foi utilizado um eletrodo específico combinado para íon F (9609 BN – Orion) acoplado ao analisador de íons (Orion 720 A), previamente calibrado com cinco padrões (1, 2, 4, 8 e 16 µg F/mL). Para a dosagem de fluoreto iônico (FI), o restante da suspensão de dentifrício foi submetido à centrifugação a 906 ×g durante 20 min. Foi pipetado 0,25 mL do sobrenadante e acrescentado 0,25 mL de HCl 2 mol L⁻¹, 0,5 mL de NaOH mol L⁻¹ e 1,0 mL de TISAB II e o F dosado da mesma forma que o FT (Anexo C).

3.4 Descrição da Fase Clínica dos Grupos Experimentais

Os voluntários deveriam preencher os seguintes critérios de inclusão [do Amaral et al., 2013; da Camara et al., 2015]:

- a) Residirem em Londrina;
- b) Apresentarem idade entre 18 a 33 anos;
- c) Concordarem em participar do estudo através de consentimento livre e informado;
- d) Bom estado de saúde geral;
- e) Ausência clínica de lesões de cárie ativas ou doença periodontal.

Os critérios de exclusão inicial foram [do Amaral et al., 2013; da Camara et al., 2015]:

- a) Uso de medicamentos ou portadores de alterações que alterem o fluxo salivar;
- b) Uso de antibióticos.

Os critérios de exclusão durante o experimento:

- a) Desistência voluntária;
- b) Alteração do quadro de saúde com consequente alteração do fluxo salivar ou necessidade de uso de antibióticos.

Uma semana antes do início do experimento e durante o washout de 7 dias, os voluntários utilizaram dentifrício Placebo (sem X/E/TMP/F). Cada dispositivo continha quatro blocos de esmalte (dois em cada lado do dispositivo) fixados cuidadosamente no dispositivo intrabucal com cera pegajosa Kota. Para permitir o acúmulo de placa bacteriana sobre os blocos de esmalte, uma tela de

polietileno foi fixada no acrílico com resina acrílica, cobrindo os blocos deixando um espaço de 1 mm entre a tela e a superfície do esmalte. Para promover o desafio cariogênico os voluntários gotejaram a cada 2 horas (6x/dia) solução de sacarose a 30% sobre cada bloco de esmalte [do Amaral et al., 2013]. Após o gotejamento da sacarose, os dispositivos foram deixados por 5 minutos em repouso antes de retornarem à cavidade bucal, a fim de que a sacarose fosse difundida pelo biofilme. A solução de sacarose a 30% foi usada até 3 dias após o preparo, sendo posteriormente substituída.

Os voluntários foram orientados a escovar os dentes com o dispositivo palatino na cavidade oral, e a seguir realizar a higiene apenas da parte correspondente ao palato do dispositivo. Foram realizados quatro regimes experimentais de 7 dias cada quando os voluntários utilizaram os dentifrícios: 1) dentifrício sem F/TMP/X/E (Placebo); 2) dentifrício com 16% Xilitol e 4% Eritritol (XE); 3) dentifrício com 200 ppm F, 0,2% TMP, 16% Xilitol e 4% Eritritol (200F/TMP/XE) e 4) dentifrício com 1100 ppm F (1100F). O regime de escovação foi de 3x/dia, após as principais refeições.

No 8º dia pela manhã, os dispositivos palatinos foram entregues ao pesquisador responsável. A tela que recobre o bloco do dispositivo palatino foi removida e o biofilme foi coletado com auxílio de curetas plásticas, tomando-se cuidado para não danificar os blocos de esmalte. Nos blocos de esmalte, foram realizadas análises de dureza de superfície final (SHf), para o cálculo da porcentagem da perda de dureza de superfície (%SH) e dureza em secção longitudinal para o cálculo da perda integrada de dureza de subsuperfície (Δ KHN).

3.5 Determinação da Dureza do Esmalte

A dureza de superfície (SH) foi determinada utilizando-se o microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA) e o software Buehler Omni Met (Buehler, Lake Bluff, USA), com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 g e tempo de 10 segundos. Cinco impressões, separadas entre si por uma distância de 100 μ m, foram realizadas na região central de cada bloco, para a análise da dureza de superfície inicial (SHi). Após o período experimental de 7 dias, foram realizadas outras cinco impressões para a análise da dureza de superfície final (SHf) distantes a 100 μ m das impressões de SHi e cálculo da porcentagem de perda de dureza de superfície (%SH). Para a análise da dureza em secção transversal, foi

realizada uma secção no centro de cada bloco e uma das metades incluída em resina acrílica e polida. Foi utilizado microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA) e o software Buehler Omni Met (Buehler, Lake Bluff, USA), carga de 5 g por 10 s. Uma sequência de 14 impressões nas distâncias de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 70, 90, 110, 130, 220 e 330 μm da superfície externa do esmalte foi realizada na área central dos blocos [Spiguel et al., 2009]. A área integrada da dureza (KHN x μm) da lesão até o esmalte hígido foi calculada utilizando a regra trapezoidal (Graph Pad Prism, versão 3.02) e subtraída da área integrada da dureza do esmalte hígido obtendo a perda integrada de dureza de subsuperfície (ΔKHN) (Anexo D).

3.6 Análise Estatística

Foi utilizado o programa estatístico Sigmaplot® para Windows versão 12.0, com significância ao nível de 5%. Os valores da %SH e ΔKHN mostraram distribuição normal (Shapiro-Wilk test) e homogênea (Cochran test). Os dados de %SH e ΔKHN foram submetidos a Anova-1critério de medidas repetidas, seguido pelo teste Student-Newman-Keuls, para fins comparativos.

4. Resultados

A tabela 1 mostra as concentrações médias (dp) do F iônico (FI), F total (FT) e do pH (n = 3) dos dentifrícios experimentais manipulados previamente ao experimento: Placebo - 10,9 (0,4) e 10,7 (1,1); XE - 15,2 (16,8) e 16,4 (40,1); 200F/TMP/XE - 204,0 (16,8) e 210,3 (18,4); e 1100F - 1127,2 (15,2) e 1182,0 (28,2). As concentrações de FI e FT apresentaram-se dentro da faixa de variação de 10% do valor aceitável. O valor médio do pH dos grupos foi de 7,1 (0,1) variando de 7,1 a 7,3.

Tabela 1. Valores de fluoreto iônico (FI), total (FT) e pH (média ± dp, n= 3) de acordo com os Dentifrícios Experimentais

Dentifrícios Experimentais	FI (ppm F)	FT (ppm F)	pH
Placebo	10,9 (0,4)	10,7 (1,1)	7,2 (0,1)
XE	15,2 (16,8)	16,4 (40,1)	7,1 (0,1)
200F/TMP/XE	204,0 (16,8)	210,3 (18,4)	7,1 (0,3)
1100F	1127,2 (15,2)	1182,0 (28,2)	7,3 (0,1)

A Tabela 2 apresenta os valores da porcentagem de perda de dureza de superfície (%SH) e perda integrada de dureza de subsuperfície (Δ KHN) de acordo com os Dentifrícios Experimentais. O tratamento com XE resultou em uma diminuição de 64% e 18% na %SH em relação ao Placebo e 1100F ($p < 0,001$). O tratamento com 200F/TMP/XE reduziu em aproximadamente 16% e 31 a %SH quando comparado ao XE e 1100F ($p < 0,001$). Além disso, a capacidade de reduzir o corpo da lesão (Δ KHN) foi ~ 93% e ~ 90% maior com 200F/TMP/XE quando comparado com XE e 1100F respectivamente ($p < 0,001$) (Tabela 2).

Tabela 2: Média (DP) das variáveis do esmalte (%SH e Δ KHN) de acordo com os Dentifrícios Experimentais

Dentifrícios Experimentais	%SH (KHN)	Δ KHN (KHN x μ m)
Placebo	-62,6 ^a (7,3)	7.888,4 ^a (651,1)
XE	-22,4 ^b (5,4)	4.602,4 ^b (1.936,4)
200F/TMP/XE	-18,8 ^c (5,1)	310,8 ^c (328,1)
1100F	-27,5 ^d (6,2)	3.077,4 ^d (542,5)

Letras distintas sobrescritas minúsculas indicam diferença estatística entre os grupos de tratamentos em cada variável (Anova-1 critério de medidas repetidas, Student Newman-Keuls test, $p < 0,001$).

5. Discussão

Dentifrícios fluoretados podem ser usados como um veículo de contribuição na melhora de saúde bucal dos indivíduos [Cury & Tenuta, 2014], e com o objetivo de melhorar seu efeito anticárie, a literatura mostra o impacto do aumento das concentrações de F, bem como diferentes compostos adicionados em sua composição. Em contrapartida o aumento da exposição ao F pelo dentifrício pode levar ao desenvolvimento da fluorose dentária [Biesbrock et al., 2001; Wong et al., 2010], mas, por outro lado, a utilização de dentifrícios com reduzida [F] podem não fornecer o mesmo efeito anticárie que um produto contendo 1100 ppm F em sua formulação [Walsh et al., 2001; Missel et al., 2016]. Nesse sentido, o presente estudo objetivou avaliar a capacidade uma formulação dentifrícia com concentração reduzida de F (200 ppm) e TMP (0,2%) associado ao Xilitol (X: 16%) e Eritritol (E: 4%) em reduzir a desmineralização do esmalte. Os resultados encontrados mostram que a adição de TMP/XE ao dentifrício contendo 200 ppm de F apresentou um maior efeito anticárie em comparação ao dentifrício convencional (1100 ppm F), assim a hipótese nula foi rejeitada.

O Xilitol e Eritritol são poliálcoois utilizados como substituto do açúcar em muitos produtos de cuidados bucais, apresentando efeitos favoráveis sobre a saúde bucal [Runnel et al., 2013], com atividade anticárie. A principal ação desses poliálcoois é diminuir a acidogenicidade do biofilme, o volume da placa e ser capaz de inibir o crescimento de *S. mutans* [Söderling, 2009; Söderling & Hietala-Lenkkeri, 2010]. Um estudo conduzido por Park et al. [2014] demonstrou que o Xilitol e o Eritritol inibiram o crescimento de *S. Mutans* e reduziram a adesão *S. mutans* e a expressão de genes envolvidos no metabolismo da sacarose, como a glicosiltransferase e frutossiltransferase. A maior parte das pesquisas que comparam Xilitol com o Eritritol no biofilme oral mostraram uma alta similaridade nos mecanismos pelos quais ambos reduzem o crescimento microbiano, produção de ácido, expressão glicosídica e gênica da frutossiltransferase e adesão celular. Miake et al. [2003], verificou através da microscopia de alta resolução e microradiografia, que o Xilitol pode induzir a remineralização de camadas mais profundas de esmalte desmineralizado, facilitando o movimento e a acessibilidade do Ca^{2+} . Entretanto, nossos achados mostraram que na ausência de F e associado apenas ao Eritritol, apresenta grande efeito na redução da desmineralização em superfície (~18% em relação ao 1100F), mas em menor grau em profundidade

(Δ KHN) quando comparado ao dentifrício contendo 1100 ppm F. Esse fato pode estar relacionado a presença do F na composição, uma vez que quando associa-se 200 ppm F ao TMP e XE, essa redução torna-se significativamente maior sendo ~ 93% e ~ 90% (Δ KHN) com 200F/TMP/XE/ quando comparado com XE e 1100F respectivamente.

Existem vários mecanismos de ação propostos ao Xilitol que confirmam sua ação anticárie, dentre eles destacam-se: interferência na produção de polissacarídeos capazes de promover a adesão de bactérias a superfície dentária [Quirynen et al., 1989], formação reduzida de biofilme, uma vez que, o Xilitol não pode ser metabolizado por estreptococos como substrato na síntese de polissacarídeo, diminuindo assim o risco do desenvolvimento de cárie [Thaweboon et al., 2004], apresenta capacidade de incorporar-se nas células de S. Mutans na forma de xilitol-5-fosfato via fosfoenolpirina sistema de fosfotransferase, resultando na inibição de crescimento bacteriano e produção ácida [Nayak et al., 2014] e apresenta um potencial remineralizante facilitando o movimento e a acessibilidade ao cálcio nos póros da lesão, especialmente para aquelas regiões com póros maiores [Miake et al., 2003], como confirmado no estudo de Cardoso et al. [2014]. Por estas razões, o dentifrício contendo XE pode favorecer a remineralização da superfície do esmalte, assim como reduzir a desmineralização, como verificado em nosso estudo, onde o tratamento com XE levou a uma diminuição de 64% e 18% na %SH em relação ao Placebo e 1100F, o que possivelmente possa estar associado a diminuição da placa dentária cariogênica e/ou também pela substituição de íons da saliva. Diferentemente dos achados encontrados por Cardoso et al. [2016], em um estudo *in situ*, utilizando vernizes como veículo de entrega, onde os autores relatam pelos dados obtidos, que o F pode ter dificultado a difusão do Xilitol no esmalte e conseqüentemente seu efeito remineralizante. Estudos prévios [Arends et al., 1984; Arends et al., 1990] demonstraram que o F é cerca de 9 vezes mais efetivo que o Xilitol em diminuir a desmineralização do esmalte *in vitro*, mas que os dois agentes apresentam mecanismos de ação diversos, podendo ter efeito aditivo, como observado pelos nossos resultados.

Estudos *in vitro* e clínico mostram que o Eritritol também possui capacidade em reduzir o peso da placa e adesão das bactérias orais estreptocócicas comuns as superfícies dos dentes, inibindo crescimento e atividade de bactérias associadas

a cárie, incluindo *S. Mutans*, diminui a expressão de genes bacterianos envolvidos no metabolismo da sacarose e reduz a incidência global de cárie até 3 anos após o término da intervenção, como demonstrado por Falony et al. [2016]. Dois estudos clínicos comparando o impacto do Eritritol e Xilitol no peso da placa dentária mostraram que o Eritritol foi mais eficaz do que o Xilitol na redução da biomassa da placa [Mäkinen et al., 2005; Honkala et al., 2014]. Estudos clínicos randomizados, controlados e duplo-cego, avaliaram a longo prazo, o efeito de doces contendo Xilitol e Eritritol sobre a incidência de cárie, demonstrando uma taxa mais lenta de desenvolvimento e menor incidência no grupo Eritritol comparado ao Xilitol [Honkala et al., 2014; Falony et al., 2016]. Uma diferença importante que pode explicar a maior eficácia preventiva da cárie do Eritritol sobre o Xilitol, são os seus pesos moleculares de 122 e 152, respectivamente. Essa diferença poderia favorecer ao Eritritol um maior potencial e velocidade de difusão sobre a placa dentária [de Cock., 2018].

Estudos também sugerem que o TMP pode estar relacionado com uma ação local, sendo adsorvido à superfície do esmalte, causando uma redução na solubilidade da hidroxiapatita e reduzindo as trocas minerais entre o meio e o esmalte [Takeshita et al., 2009; Danelon et al., 2014; Takeshita et al., 2015; Takeshita et al., 2016]. No estudo de Missel et al. [2016] os autores demonstraram que a associação de 0,25% TMP em dentifrícios com reduzida concentração de F (250 ppm F) reduziu em 2,8% o corpo da lesão de cárie quando comparado ao dentifrício 1100 ppm F, já em nosso estudo, foi verificado que o tratamento com o dentifrício 200F/TMP em associação com o XE, levou a menor desmineralização do esmalte, tanto em superfície (%SH: ~ 31%) quanto em profundidade (Δ KHN: ~ 90%), demonstrando que esta associação torna-se eficaz, principalmente quando pensamos em crianças com alta atividade de cárie, e de tenra idade.

Os resultados obtidos neste estudo são a evidência inicial para encorajar uma maior exploração da filosofia de múltiplos mecanismos que atuam em conjunto para a prevenção da cárie. Os autores percebem que estudos adicionais são necessários para continuar investigando os benefícios do uso de múltiplos mecanismos em combinação. Alguns exemplos de estudos futuros que são sendo contemplados estão: 1) Avaliação do biofilme e saliva (bioquímica e microbiológica); 2) Avaliação em modelos de remineralização; 3) Ensaios clínicos controlados e randomizados em diferentes populações com diferentes hábitos de

higiene alimentar e oral, o que poderia ser de grande valia para efetivamente comprovarmos que a associação do Xilitol/Eritritol foi fundamental para os efeitos acima mencionados, já que o TMP não apresenta efeito sobre a microbiota [Tanzer & Hageage, 1970; Shibata & Morioka, 1982].

6. Conclusão

Concluiu-se que a associação de Trimetafosfato de sódio, Xilitol e Eritritol a um dentifrício com concentração reduzida de fluoreto, produziu maior efeito protetor contra a desmineralização quando comparado ao dentifrício 1100F.

7. Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão de recursos para a realização deste trabalho.

8. Referências Bibliográficas

- 1) ADA – Council on Dental Therapeutics. Guidelines for the acceptance of fluoride-containing dentifrices. J Am Dent Assoc 1985;110:545-547.
- 2) American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD). Policy on the Use of Xylitol. Am Acad Pediatr Dent 2017/2018;39:54-56.
- 3) Arends J, Christoffersen J, Schuthof J, Smits MT. Influence of xylitol on demineralization of enamel. Caries Res 1984;18:296-301.
- 4) Arends J, Smits M, Ruben JL, Christoffersen J. Combined effect of xylitol and fluoride on enamel demineralization in vitro. Caries Res 1990;24:256-257.
- 5) Bagramian RA, Garcia-Godoy F, Volpe AR. The global increase in dental caries. A pending public health crisis. Am J Dent 2009;22:3-8.
- 6) Biesbrock AR, Gerlach RW, Bollmer BW, Faller RV, Jacobs SA, Bartizek RD. Relative anti-caries efficacy of 1100, 1700, 2200, and 2800 ppm fluoride ion in a sodium fluoride dentifrice over 1 year. Community Dent Oral Epidemiol 2001;29:382-389.
- 7) Bratthall D, Hänsel-Petersson G, Sundberg H. Reasons for the caries decline: what do the experts believe? Eur J Oral Sci 1996;104(4(Pt 2)):416-22; discussion 423-425, 430-432.
- 8) Cardoso CA, Cassiano LP, Costa EN, Souza-E-Silva CM, Magalhães AC, Grizzo LT, Caldana ML, Bastos JR, Buzalaf MA. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in situ. J Dent 2016;50:74-78.
- 9) Cardoso CA, de Castilho AR, Salomão PM, Costa EN, Magalhães AC, Buzalaf MA. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in vitro. J Dent 2014;42:1495-501.
- 10) Cury JA, Tenuta LM. Evidence-based recommendation on toothpaste use. Braz Oral Res 2014;28 Spec No:1-7.
- 11) da Camara DM, Miyasaki ML, Danelon M, Sasaki KT, Delbem AC. Effect of low-fluoride toothpastes combined with hexametaphosphate on in vitro enamel demineralization. J Dent 2014;42:256-262.
- 12) da Camara DM, Pessan JP, Francati TM, Santos Souza JA, Danelon M, Delbem AC. Synergistic effect of fluoride and sodium hexametaphosphate in toothpaste on enamel demineralization in situ. J Dent 2015;43:1249-1254.

- 13) Danelon M, Takeshita EM, Peixoto LC, Sasaki KT, Delbem AC. Effect of fluoride gels supplemented with sodium trimetaphosphate in reducing demineralization. *Clin Oral Investig* 2014;18:1119-1127.
- 14) de Cock P. Erythritol Functional Roles in Oral-Systemic Health. *Adv Dent Res* 2018;29:104-109.
- 15) Delbem ACB, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. *Am J Dent* 2002;15:169-172.
- 16) Delbem ACB, Danelon M, Sasaki KT, Vieira AEM, Takeshita EM, Brighenti FL, Rodrigues E. Effect of rinsing with water immediately after neutral gel and foam fluoride topical application on enamel remineralization: an in situ study. *Arch Oral Biol* 2010;55:913-918.
- 17) do Amaral JG, Martinhon CC, Delbem ACB. Effect of low-fluoride toothpastes supplemented with calcium glycerophosphate on enamel demineralization in situ. *Am J Dent* 2013;26:75-80.
- 18) Falony G, Honkala S, Runnel R, Olak J, Nömmela R, Russak S, Saag M, Mäkinen PL, Mäkinen K, Vahlberg T, Honkala E. Long-Term Effect of Erythritol on Dental Caries Development during Childhood: A Posttreatment Survival Analysis. *Caries Res* 2016;50:579-588. Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients* 2010;2:290-298.
- 19) Freire IR, Pessan JP, Amaral JG, Martinhon CC, Cunha RF, Delbem AC. Anticaries effect of low-fluoride dentifrices with phosphates in children: A randomized, controlled trial. *J Dent* 2016;50:37-42.
- 20) Hall KB, Delbem AC, Nagata ME, Hosida TY, de Moraes FR, Danelon M, Cunha RF, Pessan JP. Influence of the Amount of Dentifrice and Fluoride Concentrations on Salivary Fluoride Levels in Children. *Pediatr Dent* 2016;15;38:379-384.
- 21) Hamilton J. New CDC report offers fluoride use tips. *J Calif Dent Assoc* 2001;29:723-724.
- 22) Honkala S, Runnel R, Saag M, Olak J, Nömmela R, Russak S, Mäkinen PL, Vahlberg T, Falony G, Mäkinen K, Honkala E. Effect of erythritol and xylitol on dental caries prevention in children. *Caries Res* 2014;48:482-90.
- 23) Koch G, Petersson LG, Kling E, Kling L. Effect of 250 and 1000 ppm fluoride dentifrice on caries: a three-year clinical study. *Swed Dent* 1982;6:233-238.

- 24) Lima YBO, Cury JA. ingestão de flúor por crianças pela água e dentifrício. *rev saúde pública* 2001;35:576-581.
- 25) Maguire A, Rugg-Gunn AJ. Xylitol and caries prevention—is it a magic bullet? *British Dental Journal* 2003;194:429-436.
- 26) Mäkinen KK, Saag M, Isotupa KP, Olak J, Nömmela R, Söderling E, Mäkinen PL. Similarity of the effects of erythritol and xylitol on some risk factors of dental caries. *Caries Res* 2005;39:207-215.
- 27) Manarelli MM, Moretto MJ, Sassaki KT, Martinhon CC, Pessan JP, Delbem AC. Effect of fluoride varnish supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion. *Am J Dent* 2013;26:307-312.
- 28) Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, Murray CJ. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res* 2013;92:592-597.
- 29) Marinho, V. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries. Marinho VC. *Eur Arch Paediatr Dent* 2009;10:183-191.
- 30) Mascarenhas AK. Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. *Pediatr Dent* 2000;22:269-277.
- 31) Mascarenhas AK, Burt BA. Fluorosis risk from early exposure to fluoride toothpaste. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998;26:241-248.
- 32) Miake Y, Saeki Y, Takahashi M, Yanagisawa T. Remineralization effects of xylitol on demineralized enamel. *J Electron Microsc (Tokyo)* 2003;52:471-476.
- 33) Missel EM, Cunha RF, Vieira AE, Cruz NV, Castilho FC, Delbem AC. Sodium trimetaphosphate enhances the effect of 250 p.p.m. fluoride toothpaste against enamel demineralization in vitro. *Eur J Oral Sci* 2016;124:343-348.
- 34) Mitropoulos CM, Holloway PJ, Davies TGH, Worthington HV. Relative efficacy of dentifrices containing 250 or 1000 ppm F in preventing dental caries – report of a 32-month clinical trial. *Community Dent Health* 1984;1:93-200.
- 35) Narvai P, Frazão P, Roncalli A, Antunes J. Cárie dentária no Brasil: declínio, polarização, iniquidade e exclusão social. *Rev Panam Salud Publica* 2006;1: 385-393.
- 36) Nayak PA, Nayak UA, Khandelwal V. The effect of xylitol on dental caries and oral flora. *Clin Cosmet Investig Dent* 2014;6:89-94.

- 37) Paiva MF, Delbem ACB, Danelon M, Nagata ME, Moraes FRN, Coclete GEG, Cunha RF, Buzalaf MAR, Pessan JP. Fluoride concentration and amount of dentifrice influence enamel demineralization in situ. *J Dent* 2017;66:18-22.
- 38) Park YN, Jeong SS, Zeng J et al. Anti-cariogenic effects of erythritol on growth and adhesion of *Streptococcus mutans*. *Food Science and Biotechnology* 2014;23:1587-1591.
- 39) Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Arends J, Darius PL, van Steenberghe D. The influence of surface free-energy on planimetric plaque growth in man. *J Dent Res* 1989;68:796-799.
- 40) Riley P, Moore D, Ahmed F, Sharif MO, Worthington HV. Xylitol-containing products for preventing dental caries in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;26:CD010743.
- 41) Runnel R, Mäkinen KK, Honkala S, Olak J, Mäkinen PL, Nömmela R, Vahlberg T, Honkala E, Saag M. Effect of three-year consumption of erythritol, xylitol and sorbitol candies on various plaque and salivary caries-related variables. *J Dent* 2013;41:1236-1244.
- 42) Shibata H, Morioka T. Antibacterial action of condensed phosphates on the bacterium *streptococcus mutans* and experimental caries in the hamster. *Arch Oral Biol* 1982;27:809-816.
- 43) Söderling EM. Xylitol, mutans streptococci, and dental plaque. *Adv Dent Res* 2009;21:74-78.
- 44) Söderling EM, Hietala-Lenkkeri AM. Xylitol and erythritol decrease adherence of polysaccharide-producing oral streptococci. *Current Microbiology* 2010;60:25-29.
- 45) Spiguel MH, Tovo MF, Kramer PF, Franco KS, Alves KM, Delbem AC. Evaluation of laser fluorescence in the monitoring of the initial stage of the de-/remineralization process: an in vitro and in situ study. *Caries Res* 2009;43:302-307.
- 46) Takeshita EM, Castro LP, Sassaki KT, Delbem ACB. In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Re* 2009;43:50-56.
- 47) Takeshita EM, Danelon M, Castro LP, Cunha RF, Delbem AC. Remineralizing Potential of a Low Fluoride Toothpaste with Sodium Trimetaphosphate: An in situ Study. *Caries Res* 2016;50:571-578.

- 48) Takeshita EM, Danelon M, Castro LP, Sasaki KT, Delbem AC. Effectiveness of a Toothpaste with Low Fluoride Content Combined with Trimetaphosphate on Dental Biofilm and enamel demineralization in situ. *Caries Res* 2015;49:394-400.
- 49) Tanzer JM, Hageage GJ. Polyphosphate inhibition of growth of plaques formed by streptococci and diphtheroids implicated in oral disease. *Infection and Immunity* 1970;1:604-606.
- 50) Thaweboon S, Thaweboon B, Soo-Ampon S. The effect of xylitol chewing gum on mutans streptococci in saliva and dental plaque. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004;35:1024-1027.
- 51) Vieira AE, Delbem AC, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res* 2005;39:514-520.
- 52) Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpaste of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;20:CD007868.
- 53) Wong MC, Glenny AM, Tsang BW, Lo EC, Worthington HV, Marinho VC. Topical fluoride as a cause of dental fluorosis in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;20:CD007693.
- 54) Zero DM, Creeth JE, Bosma ML, et al. The effect of brushing time and dentifrice quantity on fluoride delivery in vivo and enamel surface microhardness in situ. *Caries Res* 2010;44:90-100.

9. Anexos

ANEXO A

COMITÊ DE ÉTICA

UNESP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA-CAMPUS DE ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE 												
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP												
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA Título da Pesquisa: Avaliação in situ da efetividade de um dentífrico com concentração reduzida de fluoreto e suplementado com trimetafosfato de sódio, xilitol e eritritol sobre o processo de desmineralização dentária Pesquisador: Marcelle Danelon Área Temática: Versão: 1 CAAE: 83733318.0.0000.5420 Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP Patrocinador Principal: Financiamento Próprio DADOS DO PARECER Número do Parecer: 2.522.657 Apresentação do Projeto: Estudo in situ para avaliar a capacidade uma formulação dentífrica com concentração reduzida de F (200 ppm) e TMP (0,2%) associado ao Xilitol (16%) e Eritritol (4%) em reduzir a desmineralização do esmalte e alterar a composição do biofilme comparando com dentífrico contendo 1100 ppm F. Objetivo da Pesquisa: O objetivo do presente estudo in situ será avaliar a capacidade uma formulação dentífrica com concentração reduzida de F (200 ppm) e TMP (0,2%) associado ao Xilitol (16%) e Eritritol (4%) em reduzir a desmineralização do esmalte dentário comparando com dentífrico contendo 1100 ppm F. Avaliação dos Riscos e Benefícios: Riscos: Os voluntários poderão sentir leve desconforto com o dispositivo palatino. Benefícios: Desenvolvimento de uma nova formulação dentífrica que seja capaz de reduzir a desmineralização do esmalte dentário com maior potencial, quando comparada a formulações convencionais (1100 ppm F).												
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 33%;">Endereço: JOSE BONIFACIO 1193</td> <td style="width: 33%;"></td> <td style="width: 33%; text-align: right;">CEP: 16.015-050</td> </tr> <tr> <td>Bairro: VILA MENDONÇA</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>UF: SP</td> <td>Município: ARACATUBA</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefone: (18)3636-3200</td> <td>Fax: (18)3636-3332</td> <td style="text-align: right;">E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br</td> </tr> </table>	Endereço: JOSE BONIFACIO 1193		CEP: 16.015-050	Bairro: VILA MENDONÇA			UF: SP	Município: ARACATUBA		Telefone: (18)3636-3200	Fax: (18)3636-3332	E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br
Endereço: JOSE BONIFACIO 1193		CEP: 16.015-050										
Bairro: VILA MENDONÇA												
UF: SP	Município: ARACATUBA											
Telefone: (18)3636-3200	Fax: (18)3636-3332	E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br										

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.522.657

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Objetivos são claros e bem definidos.

A metodologia proposta é capaz de atender os objetivos do estudo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos obrigatórios foram apresentados.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP aprova o projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Não havendo pendências, o CEP propõe a aprovação do projeto de pesquisa salientando que, de acordo com a Resolução 466 CNS de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 01/09/2018. O CEP reitera a necessidade de entrega de uma via (não cópia) do TCLE ao sujeito participante da pesquisa e solicita ao pesquisador responsável leitura da carta circular 003/2011 CONEP/CNS antes do início do projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1063673.pdf	25/01/2018 10:33:09		Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	25/01/2018 10:32:31	Marcelle Danelon	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	25/01/2018 10:25:26	Marcelle Danelon	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	15/01/2018 12:29:05	Marcelle Danelon	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.522.657

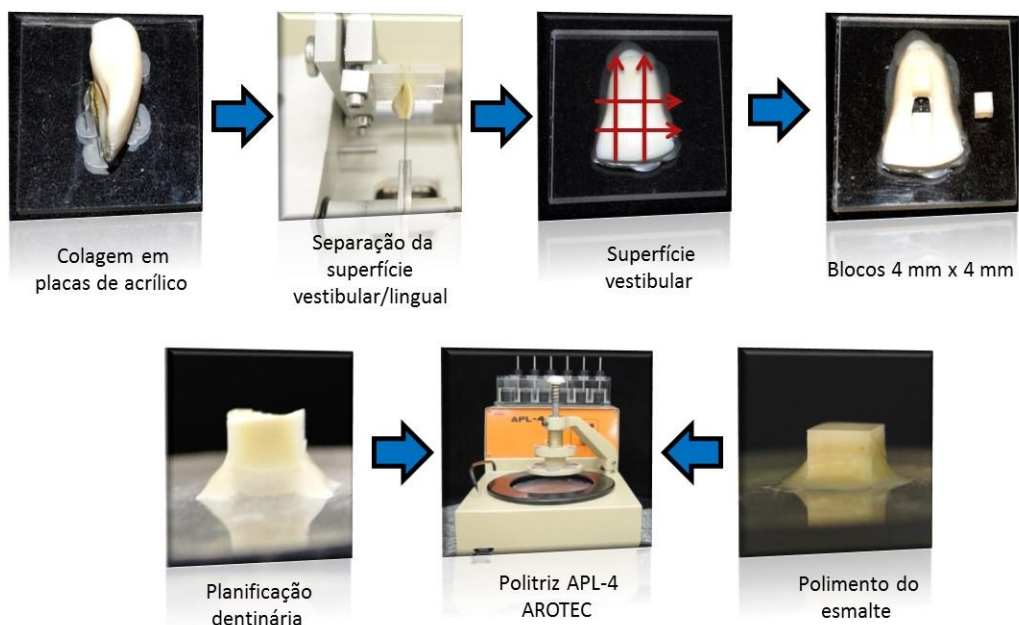
Necessita Apreciação da CONEP:
Não

ARACATUBA, 02 de Março de 2018

Assinado por:
André Pinheiro de Magalhães Bertoz
(Coordenador)

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: andrebertoz@foa.unesp.br

CEP: 16.015-050

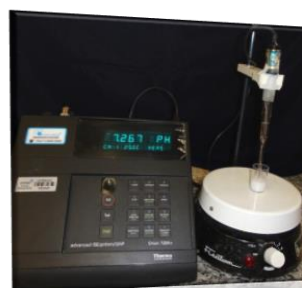
ANEXO B**PREPARO DOS BLOCOS DE ESMALTE**

ANEXO C

DOSAGEM DE FI, FT NOS DENTIFRÍCIOS E DETERMINAÇÃO DO pH



- ❖ Eletrodo específico para F⁻; Orion 9409-BN
- ❖ Microeletrodo de referência
- ❖ Analisador de íons



- ❖ Eletrodo específico para pH
- ❖ Analisador de íons

ANEXO D

DETERMINAÇÃO DA DUREZA DO ESMALTE

