

ADRIELA AZEVEDO SOUZA MARIATH

DENTIFRÍCIO DE BAIXA CONCENTRAÇÃO DE
FLUORETO: EFEITO EM ESMALTE E DENTINA DE
DENTES DECÍDUOS

Linha de Pesquisa

Biomateriais e técnicas terapêuticas em Odontologia

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, Nível Doutorado, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como pré-requisito final para a obtenção do título de Doutor em Odontologia, Clínicas Odontológicas, ênfase em Odontopediatria.

Orientador:

Prof. Dr. Fernando Borba de Araujo

Porto Alegre, março de 2009.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

M333d

Mariath, Adriela Azevedo Souza

Dentifrício de baixa concentração de fluoreto : efeito em esmalte e dentina de dentes decíduos / Adriela Azevedo Souza Mariath. - 2009.

74 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Clínica Odontológica (Odontopediatria), Porto Alegre, 2009.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Borba de Araujo

1. Esmalte 2. Dentina 3. Fluoreto 4. Desmineralização
5. Radiografia digital I. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Odontologia II. Título.

CDU 616.314-053.2

Bibliotecária: Eloisa Futuro Pfitscher CRB 10/598

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Borba de Araujo, pela confiança, incentivo e por sempre me fazer acreditar que eu seria capaz. Obrigada pelo respeito, carinho e atenção que nunca cansaste de me dar...

Ao meu colega, parceiro, amigo, marido e amor Alex Haas. Obrigada pela paciência e motivação constantes; pela ajuda imensurável em cada etapa desta jornada; pelas dezenas de análises estatísticas e revisões dos manuscritos; pelo exemplo de pesquisador e professor nato e acima de tudo pelo amor que recebo de ti e pelas incontáveis razões que me dás para te amar...

À minha família, meu berço, minha origem... A razão de tudo e a responsável pelo que sou. Minha mãe Joseila, meu padrasto Ivaldo e meus irmãos Melissa e Thiago; meus amados avós José e Redila que sempre valorizaram as minhas buscas e em especial ao meu tio Jorge Mariath que tanto me inspira.. sempre me incentivou na busca da formação acadêmica de qualidade, sem nunca perder a paixão pelo que faz... Muito obrigada!

Esta tese não teria sido realizada sem o empenho e dedicação da Equipe do Laboratório de Bioquímica da FOP-UNICAMP. Muito obrigada Prof. Jaime Cury pelos tantos ensinamentos, disponibilidade e generosidade. Profa. Livia Tenuta, pelo convívio agradável, pelo conhecimento dividido e pela capacidade de ser crítica e doce ao mesmo tempo. Colega Gisele Moi, agradeço por ter me recebido em sua casa em Piracicaba, pelas noites divididas no laboratório e por tanta dedicação. Jamais esquecerei o quanto contribuíram para a minha formação.

À Profa. Vania Fontanella pela fundamental participação nesta tese. Muito obrigada pela disponibilidade, criatividade e generosidade. Foi um privilégio ter trabalhado e aprendido tanto junto a ti!

Ao valioso grupo da Pediatria! Os 10 anos de história foram suficientes para construir vínculos maravilhosos. À minha querida amiga Ana Eliza Bressani, sua amizade vale ouro e ter você por perto é uma benção! Carla Pitoni, amiga para todas as horas, colega de pesquisas e com quem não canso de discutir ciência... Giovana Cezar Dutra, amiga e colega professora da

Urgência: és uma excelente parceria em tudo, trabalho, emoções e reflexões! Renata Franzon, tua tranquilidade, competência e generosidade são ímpares! Juliana Barata, és um exemplo de dedicação, determinação e comprometimento... A todo o grupo da Pós-Graduação da Odontopediatria, agradeço o delicioso convívio, a amizade e o comprometimento; queridas Lisiane Bernardi, Letícia Bento, Débora Dalpian, Evelin de R. Lucas e em especial a outro fruto que a Odontopediatria me deu, a minha cunhada Patrícia Luz, companheira desde às reflexões sobre a vida às corridas de rua (e os pódios!)... és iluminada! À excelente funcionária Julcelaine: fundamental para todos nós!...obrigada por tudo...

A cada uma das voluntárias que utilizaram os aparelhos, abriram mão de inúmeros momentos das suas vidas para me ajudar a realizar esse trabalho. Nunca saberei dizer o quanto sou grata pela nobreza deste ato: vocês foram incansáveis! Muito obrigada queridas Vivian Ferreira, Carolina Melleti, Caroline Dias, Patrícia Luz, Giovana Dutra, Renata Franzon, Carla Pitoni, Lisiane Bernardes, Camila Magalhães, Paula Pedrolo, Marta Roos, Márcia Gomes, Luciane Allebrandt e Juliana Rolla. À bolsista Cecília Meller, que foi fundamental neste experimento, sempre trazendo alegria e bom humor...

Aos meus irmãos de vida, meus amigos de todas as horas, com os quais dividi minhas ansiedades, minhas dúvidas, minhas alegrias e conquistas destes últimos 4 anos: Luciane Allebrandt, Juliana Rolla, Carolina Flores, Caroline Vargas, Ana Luísa H. De Carvalho, Paula Miranda, Mariana Furtado, Érico Moura, Celso C. Orth. Vocês são maravilhosos e deixam a minha vida tão mais leve e colorida!!!

A todos os colegas do PPG Odonto UFRGS. Luciano Casagrande, meu colega desde o mestrado, obrigada pelo convívio e amizade. Em especial às parceiras e amigas Juliana Jardim e Clarissa Parolo: dividir com vocês aulas, trabalhos e objetivos foi o melhor do Doutorado! Agradeço também a disponibilidade de trabalho no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Oral da FO-UFRGS, em especial à Profa. Marisa Maltz, pela atenção que sempre tiveste comigo e por tantos conhecimentos divididos...

Ao Programa de Pós-Graduação de Odontologia da UFRGS pela excelente formação que me proporcionou. À CAPES que fomentou a minha formação de

pesquisadora e professora. Tenho orgulho de ter cursado uma vida inteira de ensino público, gratuito e de extrema qualidade.

Sou fruto do ensino Público Brasileiro!

Resumo.....	7
Abstract.....	8
Introdução e Objetivo Gerais.....	9
Artigo 1: "Dentifrício de baixa concentração de fluoreto: uma revisão sistemática da literatura"	11
Artigo 2: "Low-fluoride dentifrice and demineralization on deciduous enamel and coronal dentine <i>in situ</i> "	33
Artigo 3: "Subtração radiográfica digital como meio de aferição de perda mineral em esmalte e dentina de dentes decíduos"....	51
Considerações Finais.....	67
Anexos	71
Anexo 1. Bioquímica do biofilme dental	72
Anexo 2. Consentimento Informado	73
Anexo 3. Aprovação do Comitê de Ética	74

Sumário

Resumo

Esta tese constituiu-se de três artigos que tiveram como objetivo: identificar a evidência científica disponível quanto à eficácia dos dentifrícios de concentração reduzida de fluoreto (500 μ gF/g) comparados ao dentifrício convencional (1100 μ gF/g) no controle de cárie dentária na infância; avaliar a desmineralização do esmalte e da dentina decídua frente ao desafio cariogênico na presença de dentifrício 500 F comparado ao 1100; avaliar a subtração radiográfica digital, comparada à microdureza transversa, como método de detecção de perda mineral em esmalte e dentina decíduos. Após a revisão sistemática da literatura (artigo 1), 177 publicações comparando dentifrícios de diferentes concentrações de flúor (F) foram identificadas e destas, apenas 10 foram selecionadas (4 experimentos *in vitro*; 1 *in situ*; 3 ensaios populacionais e 2 ensaios clínicos randomizados). Os estudos laboratoriais indicaram a superioridade do dentifrício 1100 em relação ao 500. Os estudos clínicos apontam para a equivalência de efeito entre 500 e 1100, exceto em crianças de diferentes perfis de atividade de cárie. Concluiu-se que não há evidência de superioridade de efeito do dentifrício 1100 em relação ao 500, exceto para crianças de alto risco ou com atividade cariosa. O artigo 2 constituiu-se de um experimento *in situ* cruzado randomizado no qual 15 voluntários utilizaram, em 3 fases de 14 dias, dispositivos palatinos contendo blocos de esmalte e dentina coronária decíduos. O desafio cariogênico (sacarose 20% 8x/dia) foi estabelecido concomitantemente ao uso de dentifrícios 500, 1100 e sem F. Após cada fase experimental, o biofilme foi analisado e os blocos seccionados para aferir a microdureza transversa. Para a análise dos dados, ANOVA e teste de Tuckey foram utilizados. A concentração de F no biofilme do grupo sem F foi significativamente inferior aos grupos 500 e 1100, tanto em esmalte quanto em dentina. Em esmalte, a perda mineral foi significativamente maior no grupo placebo, sem diferença entre os grupos 500 e 1100. Em dentina, apenas o dentifrício 1100 teve menor perda mineral que o sem F em profundidade. Conclui-se que em esmalte, dentifrícios 500 e 1100 foram eficazes na prevenção da lesão cariosa. Porém, em dentina apenas o dentifrício 1100 inibiu a desmineralização. No artigo 3, os dados de microdureza (ΔS) foram relacionados à subtração radiográfica digital como método de aferição de perda mineral. Foram realizadas sobreposições das imagens radiográficas de esmalte e dentina antes e após o desafio cariogênico utilizando dentifrício sem F, 500 e 1100 ppm F. A subtração radiográfica identificou alterações na intensidade de pixel em esmalte e dentina, entretanto não se observaram diferenças significativas entre os tipos de dentifrícios. Em esmalte, não foram observadas correlações significativas entre ΔS e intensidade de pixel, independentemente da concentração de F do dentifrício. Em dentina, houve correlação significativa entre o ΔS e a subtração radiográfica somente no grupo do dentifrício sem F ($\beta=180$; $p=0,01$). Esses achados não suportam o uso da subtração radiográfica como único meio de aferição de perda mineral em modelos experimentais cuja magnitude de perda mineral seja compatível à da presente pesquisa.

Palavras-chave: esmalte, dentina, fluoreto, desmineralização, radiografia digital.

Abstract

This thesis consisted of three articles that aimed to: identify the available scientific evidence regarding the efficacy of low fluoride (F) concentration dentifrice (500 μ gF/g) compared to conventional F-dentifrice (1100 μ gF/g) in infant caries; evaluate the demineralization of deciduous enamel and dentine during a cariogenic challenge in the presence of low-F dentifrice compared to conventional dentifrice; evaluate digital subtraction radiography compared to transversal microhardness as a method of mineral loss detection in deciduous enamel and dentine. A systematic review (article 1) identified 177 publications of which only 10 (4 *in vitro* and 1 *in situ* experiments, 3 field trials and 2 randomized clinical trials) compared different F-dentifrices concentrations were then selected. Laboratory studies indicated a superiority of the 1100 compared to the 500 F-dentifrices. Clinical studies pointed out for an equivalence effect between 500 and 1100 F-dentifrices, except in children with different profiles of caries activity. It was concluded that there is no evidence of superiority of the 1100 compared to the 500 F-dentifrices except for high-risk children. Article 2 was a randomized crossover *in situ* experiment, including 15 volunteers that used palatal devices containing deciduous enamel and coronal slabs for periods of 14-days. A cariogenic challenge (20% sucrose 8x/day) was established concomitantly to the use of 500, 1100 and non-F dentifrices slurries. After each phase, the dental biofilm formed was analyzed and the slabs were prepared for cross-sectional microhardness measurements. Tuckey's test was used for post-ANOVA comparisons. The effect of F-dentifrices in enamel was observed only at 10 μ m from the surface, but no significant difference was observed between 500 and 1100 F-dentifrices. In dentin, the effect of 1100-F dentifrice was observed deeper, presenting significantly less mineral loss than 500 and non-F dentifrices. In conclusion, the low-F dentifrice is not effective as 1100 F-dentifrice in preventing mineral loss in deciduous dentin substrate. In article 3, microhardness data (Δ S) were used to evaluate digital subtraction radiography as a method of mineral loss measurement. Subtraction radiography identified changes in pixel intensity in enamel and dentine, although no significant differences were observed between dentifrice types. In enamel, there were no significant correlations between Δ S and pixel intensity, independently of dentifrice fluoride concentration. In dentine, there was a significant correlation between Δ S and pixel intensity only in non-F dentifrice group ($\beta=180$; $p=0,01$). It was concluded that these findings do not support the use of subtraction radiography as the only method for mineral loss measurement in experimental models in which the magnitude of mineral loss is compatible to that of the present study.

Keywords: enamel, dentine, fluoride, demineralization, digital radiograph.

Introdução Geral

O dentifrício fluoretado é o método mais efetivo no combate à cárie dental no mundo [Marinho et al., 2003; Marthaler, 2004]. A relevância desse método de prevenção de cárie baseia-se na combinação de duas estratégias, a desorganização mecânica do biofilme cariogênico associado à disponibilidade de fluoreto (F) à cavidade bucal [Rolla et al., 1991]. A ação físico-química do F propicia a redução da desmineralização frente à queda do pH no biofilme, uma vez que a dissolução da hidroxiapatita é sucedida pela precipitação da fluorhidroxiapatita, de menor solubilidade. A medida que os níveis de pH são neutralizados, a remineralização é potencializada, repondo parte do mineral perdido [ten Cate, 1999]. Portanto, o F age prevenindo e recuperando perdas minerais nas estruturas dentárias.

Os dentifrícios fluoretados são indicados no controle da cárie dentária a todos os indivíduos, sendo a única discussão ou exceção direcionada às crianças durante os primeiros anos de vida. Discute-se a associação dos dentifrícios fluoretados à fluorose dental, apesar de não haver consenso em ser este um fator de risco [Pendrys, 1995; Riordan, 1993]. Uma das estratégias propostas para o controle da fluorose dental foi o uso dos dentifrícios de baixa concentração de F (entre 400 e 600 ppm F) [Do and Spencer, 2007; Ellwood et al., 2004]. Entretanto, a eficácia e a efetividade dos dentifrícios de baixa concentração de F ainda é um forte ponto de discussão [Ammari et al., 2003]. A capacidade destes dentifrícios em prevenir perda mineral nos dentes decíduos em condições cariogênicas ainda está descoberta da literatura. Seu efeito sobre as lesões cariosas em esmalte e dentina de dentes decíduos ainda merece esclarecimentos, bem como seu padrão de progressão. Ainda, apesar das evidências quanto ao efeito do F sobre a dentina [Hara et al., 2003; Lagerweij et al., 1997], até então, pouco se sabe sobre a ação do dentifrício de baixa concentração sobre a dentina decídua.

A magnitude do efeito preventivo e terapêutico dos dentifrícios de baixa concentração pode ser mensurada em estudos clínicos e laboratoriais.

Apesar dos estudos laboratoriais indicarem desfechos intermediários, possibilitam a mensuração de alterações minerais mais precisas. A micro-radiografia [ten Cate et al., 1998] e a microdureza [Cury et al., 1997] são métodos consagrados na aferição da perda mineral na estrutura dentária. Tais métodos exigem preparo da amostra, comprometendo a integridade da mesma, para mensurar a perda ou o ganho mineral. Métodos mais recentes de diagnóstico, como a subtração radiográfica, tem demonstrado resultados animadores, identificando com sucesso discretas alterações minerais [Pitoni, 2007; Ricketts et al., 2007].

Objetivos Gerais

1. Identificar a evidência científica disponível quanto à eficácia dos dentifrícios de concentração reduzida de fluoreto comparado ao dentifrício convencional na prevenção de cárie dentária na infância;
2. Avaliar a desmineralização do esmalte e dentina de dentes decíduos frente ao desafio cariogênico na presença de dentifrício de reduzida concentração de fluoreto comparado ao convencional;
3. Avaliar a subtração radiográfica digital, comparada a microdureza transversa, como método de detecção de perda mineral em esmalte e dentina de dentes decíduos.



*“Dentifrício de baixa concentração de fluoreto:
uma revisão sistemática da literatura”*

DENTIFRÍCIO DE BAIXA CONCENTRAÇÃO DE FLUORETO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Autores

Adriela Azevedo Souza Mariath*

Alex Nogueira Haas**

Fernando Borba de Araujo***

Titulação

* Mestre e Doutoranda em Odontologia-Odontopediatria UFRGS

** Mestre e Doutor em Odontologia-Periodontia UFRGS, Professor Adjunto de Periodontia UFRGS

*** Mestre e Doutor em Odontopediatria USP, Professor Adjunto da Clínica Infanto-Juvenil UFRGS

Palavras-chave: dentifrício – flúor – cárie dentária – dente decíduo

Resumo

O objetivo desta revisão sistemática da literatura foi identificar a evidência disponível quanto à eficácia dos dentifrícios de concentração reduzida de flúor comparado ao dentifrício convencional na prevenção de cárie dentária na infância. As palavras-chave utilizadas para a busca foram dentifrício de baixa concentração de fluoreto, dentifrício 500 ppm de flúor (500 ppm F), dentifrício infantil. Os desfechos avaliados nos estudos deveriam ser clínico (incremento de cárie) e/ou laboratorial (perda mineral da estrutura dental). O resultado da busca gerou 177 publicações, das quais 19 foram selecionadas por contemplarem os critérios estabelecidos (3 estudos experimentais *in vitro*; 1 *in situ*; 3 ensaios clínicos de porte populacional e 2 ensaios clínicos randomizados). Os estudos laboratoriais indicam a superioridade do dentifrício convencional em relação ao 500 ppm F. Todos os estudos clínicos apontam para a equivalência de efeito entre dentifrício 500 ppm F e convencional, exceto em crianças de diferentes perfis de atividade de

cárie. A progressão das lesões cariosas foi maior em crianças com lesões ativas pré-existentes que usaram dentifrício 500 ppm F. Portanto, diante da qualidade científica disponível até o momento, não há evidência de superioridade de efeito do dentifrício convencional em relação ao de baixa concentração, exceto para crianças de alto risco ou presença de atividade cariosa. Conclui-se, que o dentifrício 500 ppm F apresenta eficácia preventiva contra cárie dentária comparado ao convencional, podendo ser recomendado a indivíduos sem atividade de cárie durante os primeiros anos de vida.

Introdução

O dentifrício fluoretado é considerado o método de exposição ao fluoreto de maior repercussão no mundo. Sua relevância no controle da doença cárie é incontestável, sendo um dos mais importantes fatores de redução na prevalência e severidade da mesma nos países industrializados e em desenvolvimento [Marthaler, 2004; Rolla et al., 1991]. Concomitantemente à redução de cárie em nível mundial, a fluorose vem apresentando um aumento na sua prevalência nas últimas décadas [Khan et al., 2005; McDonagh et al., 2000; Tan et al., 2005]. A causa da sua crescente incidência ainda é controversa, uma vez que as fontes sistêmicas de fluoreto são inúmeras (água de abastecimento, alimentos, bebidas, complemento sistêmico de flúor, ingestão de agentes tópicos de F, como dentifrício fluoretado)[Erdal and Buchanan, 2005]. Nos Estados Unidos, estimativas indicam que uma parcela da população infantil de zero a cinco anos de idade está exposta a uma dose de fluoreto que excede a necessária para a prevenção de cárie [Erdal and Buchanan, 2005].

Estudos investigaram a dose ingerida durante a higiene bucal com dentifrício fluoretado, sendo observado que crianças menores de cinco anos ingerem de 25-65% do volume de dentifrício utilizado durante a escovação em função da imaturidade da musculatura responsável pela deglutição [Ericsson and Forsman, 1969; Lima and Cury, 2001; Ripa, 1991; Siew Tan and Razak, 2005; van Loveren et al., 2004; Whitford et al., 1987]. Uma pesquisa realizada em Bauru (SP, Brasil) constatou que até 85% do flúor (F)

ingerido por crianças de um a três anos de idade é originado do dentifrício fluoretado [de Almeida et al., 2007]. O dentifrício fluoretado, inadvertidamente ingerido pelas crianças, pode representar um aumento de duas a seis vezes na dose diária de F ingerido [Erdal and Buchanan, 2005], sendo portanto considerado uma variável importante na avaliação de risco à fluorose dentária, apesar de ainda inconclusivas as evidências que indicam ser este um fator de risco [Mascarenhas, 2000; Mascarenhas and Burt, 1998; Osuji et al., 1988; Riordan, 1993].

Associado a outras medidas para o controle do F ingerido, tais como, não realizar a higiene bucal em jejum (estômago vazio aumenta a absorção do F), controle da quantidade de dentifrício, bochecho com água após a escovação e supervisão dos responsáveis durante a higiene bucal [Cochran et al., 2004; Lima and Cury, 2001; Siew Tan and Razak, 2005; van Loveren et al., 2004], o uso de dentifrícios com menores concentrações de F vem sendo sugerido. Pesquisas clínicas e laboratoriais tem investigado a efetividade dos dentifrícios de baixa concentração de F (~500 ppm F). Fatores relacionados ao seu efeito anti-cárie, bem como o risco à fluorose, são temas abordados na literatura [Ammari et al., 2003; Ellwood et al., 2004; Negri and Cury, 2002; Scabar et al., 2004; Steiner et al., 2004].

Neste contexto, o efeito dos dentifrícios de concentração reduzida de fluoreto vem sendo avaliado em revisões da literatura e estudos experimentais. Porém, ainda há inúmeros questionamentos quanto à equivalência de efeito destes dentifrícios na prevenção de cárie e risco à fluorose dentária. Essa revisão sistemática da literatura teve como objetivo identificar qual a evidência existente quanto à eficácia dos dentifrícios de concentração reduzida de flúor (400-600 ppm de fluoreto) comparado ao dentifrício convencional (1000-1500 ppm de fluoreto) na prevenção de cárie dentária na infância.

Metodologia

Estratégia de busca

A busca por estudos na literatura contemplou experimentos *in vitro*, *in situ*, ensaios controlados randomizados e ensaios comunitários que avaliassem a eficácia anticárie dos dentifrícios de concentração reduzida de fluoreto. As publicações até setembro de 2008 em língua inglesa, portuguesa e espanhola dos bancos de dados Pubmed, Bireme e Lilacs foram consultadas. As palavras-chave utilizadas para a busca foram: dentifrício de baixa concentração de fluoreto, dentifrício 500 ppm de flúor, dentifrício infantil (*low-fluoride dentifrice, low-fluoride toothpaste, 500 ppm F dentifrice, children toothpaste/dentifrice*). O desfecho avaliado nos estudos foi clínico (incremento de cárie dentária) e/ou laboratorial (perda mineral da estrutura dental).

Crítérios de Inclusão/Exclusão

O título e resumo de todos os estudos identificados foram avaliados por um examinador. Após a leitura dos resumos, aqueles que perfizeram os seguintes critérios de inclusão foram selecionados:

- Desenho experimental de ensaio controlado randomizado (padrão-ouro dentifrício 1000-1500 ppm F), ensaio comunitário ou estudo experimental laboratorial (*in vitro*, *in situ*);
- Desfecho primário cárie dentária (incidência ou prevalência) ou perda mineral.

Os estudos foram excluídos na ausência das características acima e quando apresentassem ausência de análise comparativa entre dentifrício de baixa concentração e convencional (acima de 1000 ppm F).

Resultado da busca

No total, 177 publicações foram identificadas de acordo com a estratégia de busca. Destas, 30 foram selecionadas após a leitura do título. Finalizada a avaliação dos resumos, 13 trabalhos foram selecionados. Após a leitura dos mesmos na íntegra, 9 contemplaram os critérios de inclusão. Três estudos

foram excluídos devido as seguintes razões: ausência de análise entre grupos dentifrício 500 e 1100 ppm F [Reed, 1973], mesma amostra em estudo publicado subsequente [Winter et al., 1989] e desfecho mensurado incompatível com os critérios definidos por esta revisão [Schmid et al., 1989].

Avaliação dos Estudos

A Tabela 1 descreve as características metodológicas e os principais achados dos estudos selecionados para revisão. A Tabela 2 reporta as características relativas aos estudos clínicos. Os estudos estão dispostos de acordo com o nível hierárquico de evidência determinado pelo desenho experimental dos estudos [Sutherland, 2001]. Esta revisão sistemática não incluiu uma metanálise, sendo uma revisão descritiva, objetivando identificar qual a evidência disponível no momento do impacto dos dentifrícios de baixa concentração de fluoreto na perda mineral e na cárie dentária em crianças.

Resultados

A estratégia de busca aplicada na presente revisão resultou em 9 estudos experimentais controlados, sendo quatro estudos experimentais laboratoriais (três estudos *in vitro* e um *in situ*), três ensaios clínicos de porte populacional (estudos comunitários) e dois ensaios clínicos randomizados (Tabela 1). A maioria dos estudos experimentais *in vitro* utilizaram como substrato dentes bovinos com metodologias de desmineralização (DES), avaliando o efeito do dentifrício quando utilizado durante o desafio cariogênico [Alves et al., 2007; Brighenti et al., 2006; Queiroz et al., 2008]. Dois estudos avaliaram a recuperação mineral com o dentifrício após a lesão cariiosa ter sido formada (delineamento de remineralização – RE), um deles utilizando esmalte humano [Nobre-dos-Santos et al., 2007] e outro, esmalte bovino [Queiroz et al., 2008].

Independentemente do desfecho utilizado, tais como microdureza superficial (%MDS), microdureza transversa (profundidade da perda mineral) e delta Z (área da perda mineral), a formulação experimental de dentifrício 550 ppm F com pH ácido mostrou em todos os estudos incluídos um efeito

anti-cárie compatível ao da formulação 1100 ppm F e ao do dentifrício padrão Crest® (1100 ppm F). O dentifrício 500 ppm F disponível no mercado brasileiro foi avaliado em 3 estudos *in vitro* [Alves et al., 2007; Brighenti et al., 2006; Queiroz et al., 2008], demonstrando efeito anticárie *in vitro* significativamente menor do que o padrão 1100 ppm F. O único estudo *in situ* que avaliou o efeito do dentifrício 500 ppm F frente ao desafio cariogênico [Nobre-dos-Santos et al., 2007] utilizou a formulação modificada com pH ácido. Este experimento, assim como os demais experimentos *in vitro*, mostraram efeito compatível de inibição da lesão cariosa da formulação 500 ppm F e 1100 ppm F ou Crest®.

Os estudos clínicos demonstraram dados após a intervenção em grupos populacionais [Ellwood et al., 2004; Holt et al., 1994; Stookey et al., 2004], em grupos de escolares [Biesbrock et al., 2003] e em amostra de conveniência selecionada para estudo de intervenção [Lima et al., 2008], como pode-se observar na Tabela 2. Considerando os achados clínicos, após ajuste para exposição à água fluoretada e idade de início de dentifrício, modelos de regressão logística demonstraram que o uso de dentifrício 1050 esteve associado ao desenvolvimento de fluorose dentária, sem representar benefício adicional na prevenção de dentes cariados ou no número de crianças livres de cárie [Holt et al., 1994].

Na Guatemala, após a supervisão da higiene bucal duas vezes ao dia durante o período escolar de nove meses, escolares de 9 a 12 anos de idade foram examinados após 21 meses do início da intervenção. Grupos 500, 1450 ppm F e placebo foram comparados, entretanto, os indivíduos foram realocados para os grupos de dentifrício fluoretado após 9 meses utilizando dentifrício sem fluoreto devido a questões éticas. Aos nove e aos 21 meses não houve diferença no incremento de cárie entre os indivíduos que utilizaram 500 e 1450 ppm. Dados isolados do incremento de cárie nas superfícies proximais mostraram redução superior dos grupos 500 e 1450 em relação ao placebo aos nove meses, e apenas o número de superfícies proximais acometidas nos grupos dos dentifrícios fluoretados foi significativamente inferior ao placebo aos 21 meses [Biesbrock et al., 2003].

O impacto da concentração do dentifrício também foi avaliado no noroeste da Inglaterra, em distritos sem níveis ótimos de fluoretação das águas e com alto índice e severidade de cárie. A intervenção se caracterizou pelo fornecimento mensal de dentifrício de 440 e 1450 ppm F desde os 12 meses de vida. Os indivíduos foram analisados de acordo com o grau de assistência à saúde, condições de vida e bens de consumo. Observou-se que as crianças menos desassistidas que usaram dentifrício 440 ppm F tenderam a ter mais cárie que as dos dois outros grupos, entretanto aquelas mais desassistidas que usaram dentifrício 440 ppm F tem um padrão de cárie bastante semelhante as que usaram 1450 ppm F. Ainda, as menos desassistidas que usaram dentifrício 1450 apresentaram um percentual menor (16%) de cárie severa (CPOD \geq 4) se comparado às que usaram 440 ppm F (27%). Tal contraste não foi observado nas crianças mais desassistidas, não apresentando diferença nas estimativas de cárie severa. O fornecimento de dentifrício fluoretado não foi capaz de reduzir as discrepâncias na saúde bucal entre crianças mais ou menos desassistidos. Ainda, o benefício de usar dentifrício em maior concentração de fluoreto trouxe maior impacto na redução de cárie apenas para as crianças menos desassistidas [Ellwood et al., 2004].

Em outro ensaio comunitário realizado na região metropolitana de Porto Rico, os dentifrícios 500 e 1100 ppm F foram utilizados em escovações supervisionadas durante dois anos. Não foi observada diferença no incremento de cárie em escolares de 9-12 anos. Os demais grupos de comparação do estudo foram dentifrício 2800 (NaF) e 1100 (SnF-HMP) os quais apontaram uma diferença entre 13 e 23% na redução do incremento de cárie [Stookey et al., 2004].

O ensaio clínico randomizado realizado com pré-escolares de baixa renda de São Luís (MA, Brasil), expostos a baixas concentrações de fluoreto na água de abastecimento, não revelou diferença na cárie dentária em crianças sem atividade de cárie (portadoras de lesões cariosas de natureza inativa e/ou livres de cárie) que utilizaram dentifrício 500 ou 1100 ppm F. Entretanto, aquelas crianças inicialmente diagnosticadas com lesões cariosas

ativas apresentaram uma taxa de progressão maior com o uso de dentifrício 500 ppm F após o período de um ano de acompanhamento do estudo [Lima et al., 2008].

Tabela 1. Características dos estudos selecionados para revisão sistemática.

Estudo	Delimitação (amostra)	Grupos	Desfechos	Principais achados
Brighenti et al. [2006]	<i>In vitro</i> (DES*) (esmalte bovino)	Placebo, 275, 412, 550, 1100 pH 7 e 5,5; Colgate 500; Crest 1100	Microdureza superficial (% de mudança da dureza=%MDS)	<ul style="list-style-type: none"> • 550 pH 5,5 não difere de 1100 pH 5,5 e 7. • 412 pH 5,5 não difere de 1100 pH 7 • Colgate500 não difere de 550 e 412
			Microdureza transversa (ΔZ)	<ul style="list-style-type: none"> • ΔZ: 550 pH 5,5 não difere 1100 pH 5,5 e 7
			F, Ca, Pi mensurado na solução.	<ul style="list-style-type: none"> • F: 550 pH 5,5 não difere de 1100; • Ca, Pi: dentífrico ácidos provocaram menores perdas dos ions no esmalte
Alves et al. [2007]	<i>In vitro</i> (DES*) (esmalte bovino)	Placebo, 275, 412, 550, 1100 pH 7 e 4,5; Colgate 500; Crest 1100	Microdureza superficial (%MDS)	<ul style="list-style-type: none"> • 412/550 pH 4,5 não diferem de 1100 pH7 e Crest. • Colgate500 maior perda que 550 ph 4,5, 1100ppm e Crest
			Microdureza transversa(ΔZ);	<ul style="list-style-type: none"> • 412/550 pH 4,5 não diferem de 1100 pH7 e Crest • Colgate500 maior perda que 550 ph 4,5, 1100ppm e Crest
			F, Ca, Pi (Δ) mensurado na solução.	<ul style="list-style-type: none"> • FA: Colgate500 não difere de 550 ph 4,5

Queiroz et al. [2008]	<i>In vitro</i> (DES e RE) (esmalte bovino)	Colgate 500 Tandy 1100 Crest 1100	DES: %MDS, ΔZ e profundidade de lesão (PL);	DES e RE: Tandy x Crest não diferiram; %MDS e PL 550 > 1100. 550 x Tandy/Crest: menor efeito anticarie em todas variáveis.
			RE: %RMDS (recuperação da dureza), ΔZ e PL.	
Nobre-dos-Santos et al. [2007]	<i>In situ</i> cruzado (RE) (esmalte humano)	Placebo 550 pH 5,5 1100 pH 7	%RMDL (recuperação dureza secção longitudinal)	%RMDL e FA: 550 e 1100 não diferem; \uparrow CaF 1100 ppm
			F esmalte: - CaF - FA	- \uparrow CaF 1100 ppm - FA: 550 e 1100 não diferem;
Holt et al. [1994]	Ensaio Comunitário (Norfolk -Inglaterra, água com 0,5 ppm F)	550 ppm 1100 ppm controle externo	CPOSD ceod	p>0,05
			% livre de cárie	p>0,05
			Opacidades esmalte (Índice TF)	TF \geq 1: p>0,05 (menor n dentes no grupo 550) TF \geq 2: p>0,05 (menor n de dentes e crianças no 550) TF \geq 3: Regressão Múltipla: 1050 aumenta 66% fluorose
Biesbrock et al. [2003]	Ensaio clínico randomizado, parcial controlado por placebo (Guatemala, água com 0,3 ppm F)	Placebo 500 ppm 1450 ppm	Exame clínico e radiográfico aos 9 e 21 meses após a intervenção	<ul style="list-style-type: none"> • CPOS integrado aos 9 m e 21 m: p>0,05 entre grupos dentifício F • Incremento cárie 9m: redução de 73,4% no 500 e 73,7% 1450 (comparados ao placebo p<0.05)

Ellwood et al. [2004]	Ensaio Comunitário (Inglaterra, água com 0,1 ppm F)	440 ppm 1450 ppm controle	CPOD (ceo-d) % CPOD>0 % CPOD>4 % cárie incisivos % dente extraído	Crianças mais desassistidas CPOD maior e sem diferir 440 e 1450 (p>0,05); Menos desassistidas: 1450 menor CPOD (p<0,05)
Stookey et al. [2004]	Ensaio Comunitário (Porto Rico, água <0,3 ppm F)	500 ppm (NaF) 2800 (NaF) 1100 (SnF-HMP) 1100 (NaF)	Incremento CPOS % redução CPOS	Todos grupos com incremento de cárie. Não houve diferença no incremento cárie após 2 anos entre 500 e 1100 (NaF).
Lima et al. [2008]	Ensaio clínico randomizado (pré-escola São Luis, Brasil, água <0,3 ppm F)	500 CA 1100 CA 500 CIn 1100 CIn	Progressão lesão (n cáries-ativas/ criança); Inativação lesão (n cáries-ativas ao final registrada como inativas/ criança);	Progressão de lesão em crianças cárie-inativas não difere usando 500 e 1100. Progressão de lesão crianças cárie-ativas é maior com 500.

* DES: experimento avaliou a perda mineral no desafio DES-RE (inibição da formação da lesão cariosa)

**RE: experimento avaliou a recuperação mineral após a perda no desafio DES-RE (remineralização/reparo da lesão cariosa previamente formada)

SnF-HMP (fluoreto estanhoso com hexametáfosfato de sódio)

TF (Índice de Thylstrup e Fejerskov para fluorose dentária)

CA (Crianças cárie-ativas); CIn (crianças cárie inativas)

Tabela 2. Características dos ensaios clínicos e comunitários randomizados.

Estudo	Intervenção/ Avaliação	Idade	Grupos	Amostra inicial (final)	Tempo de avaliação	Achados
Holt et al. [1994]	HB semi- supervisionada/ Exame clínico e radiográfico	2-5 anos de idade	550 1100 controle externo (apenas exame, sem intervenção)	517 (490) 490 (469) 516 (493)	3 anos após da intervenção (9,8±0,6 anos de idade)	p>0,05: Índice de cárie (e n de crianças livres de cárie) inferior no grupo 550 p<0,05: dentifrício 550 fator protetor para opacidade esmalte
Biesbrock et al. [2003]	HB supervisionada 2x/dia (dias letivos escolares)/ Exame clínico (D2- D4) e radiográfico (CPOS integrado)	Escolares de 9-12 anos	Placebo 500 1450ppm (após 9 meses, amostra placebo foi distribuída para 500 e 1450 – ética)	220 (185) 219 (198) 218 (199)	9 meses de intervenção e avaliação 21 meses do baseline	<u>CPOS integrado 9 meses:</u> • Oclusal/ Vest-Ling p>0,05 • Proximal p<0,05 1450/500 x placebo <u>CPOS integrado 21 meses:</u> • p>0,05 <u>Incremento cárie 21meses:</u> • p>0,05 1450 x 500 • Proximais p<0,05 1450/500 x placebo
Ellwood et al. [2004]	Fornecimento de dentifrício/ Exame clínico	1 ano de idade (fornecimen to de dentifrício até 5-6 anos)	440 1450 controle (grupo populacional sem fornecimento específico)	2472 (1096) 2488 (1093) 2462 (1278)	4-5 anos	%CPOD>0 <u>Menos desassistidas</u> 440 – 51% 1450 – 40% controle – 44% (p<0,05) <u>Mais desassistidas</u> 440 – 59% 1450 – 61% controle – 68% (p<0,05)

						<p>% CPOD\geq4</p> <p><u>Menos desassistidas</u> 440 – 27% 1450 – 16% controle – 22% (p<0,05)</p> <p><u>Mais desassistidas</u> 440 – 35% 1450 – 35% controle – 39% (p>0,05)</p>
Stookey et al. [2004]	HB supervisionada 2x/dia (dias letivos escolares)/ Exame clínico (D2-D4) e radiográfico (CPOD integrado)	9-12 anos de idade	500 ppm (NaF) 2800 (NaF) 1100 (SnF-HMP) 1100 (NaF)	242 235 238 240 (baseline 955; drop pout 1 ano 16% e 2 anos 28%)	2 anos	% redução (relação 1100) 500 ppm (p>0,05) 2800: entre 13-23% (p<0,05) 1100 SnF: entre 17-25% (p<0,05)
Lima et al. [2008]	HB supervisionada pré-escola 2x ao dia e orientação de 2x ao dia em casa/ Exame clínico	2-4 anos de idade	500 CA 1100 CA 500 CIn 1100 CIn	30 (22) 30 (21) 30 (24) 30 (23)	1 ano	Progressão de lesão 500 CIn x 1100 CIn (p>0,05) 500 CA x 1100 CA= maior progressão lesão com 500 (p<0,05) Inativação de lesão 500 CA x 1100 CA (p>0,05)

CA (Crianças cárie-ativas); CIn (crianças cárie inativas)

Discussão

A eficácia do dentifrício 1100 ppm F no controle da cárie dentária é indiscutível. Seu uso garante uma redução de cárie que varia entre 18 e 44% comparado à ausência de dentifrício [Ammari et al., 2003; Koch et al., 1990; Marinho et al., 2003b]. O dentifrício fluoretado é considerado, portanto, o meio de melhor custo-benefício para o controle da doença cárie [Featherstone, 1999; Marinho et al., 2003a; Marthaler, 2004; Twetman et al., 2003], sendo inclusive efetivo na prevenção e tratamento da cárie precoce na infância [Ammari et al., 2007; Twetman, 2008].

O efeito dos dentifrícios de baixa concentração de flúor na cárie dentária vem sendo documentado desde a década de 70. O primeiro estudo populacional que investigou o efeito do dentifrício 500 ppm F não observou diferença em relação ao dentifrício placebo sem flúor [Reed, 1973]. Entretanto, cabe salientar que a mensuração do efeito do dentifrício fluoretado é complexa. Fatores ou indicadores de risco à doença cárie se expressam diferentemente na população, modificando o desfecho da doença. Na presença de atividade de doença, a expressão dos fatores de risco determinarão a severidade da doença presente, observada pelo número e extensão das lesões, bem como as superfícies dentárias acometidas [Harris et al., 2004; Reisine and Psoter, 2001]. Portanto, pode-se dizer que o efeito preventivo ou terapêutico do dentifrício fluoretado depende da magnitude do desafio cariogênico associado a características individuais e populacionais.

O uso do fluoreto na promoção de saúde bucal envolve o balanço entre proteção, garantida pela diminuição das lesões cáries, e o risco de desenvolvimento da fluorose, resultante da ingestão acima de uma dose limite durante os estágios de formação do esmalte. A associação da fluorose com ingestão de água fluoretada, complementos de flúor e dentifrício fluoretado é bem descrita na literatura [Mascarenhas, 2000]; entretanto, a sua relação com dentifrício de diferentes concentrações de fluoretos ainda é controversa. Estima-se que a dose de dentifrício associada à toxicidade crônica seja de aproximadamente 0,5 mg F ingerido durante cada uma das duas escovações diárias com dentifrício 1100 ppm F [Stookey, 1994].

Portanto, reduzir a quantidade de dentifrício 1100 ppm F utilizada durante a higiene bucal ou diminuir a sua concentração são alternativas propostas. Apesar de não ser o objetivo da presente revisão, o estudo da fluorose é inerente à discussão da efetividade de dentifrícios fluoretados de diferentes concentrações. A quantidade de dentifrício utilizada parece ser mais relevante para o dentifrício com dose convencional de flúor. No estudo australiano de base populacional, a quantidade de dentifrício 440-550 ppm F utilizada durante a higiene bucal não apresentou associação com o desenvolvimento de fluorose; entretanto, usuários de dentifrício 1000-F tiveram maior prevalência de fluorose quando maiores volumes foram utilizados nos primeiros anos de vida [Spencer and Do, 2008]. Portanto, as evidências apontam para cautela no uso de dentifrício convencional nos primeiros anos de vida das crianças [Do and Spencer, 2007b; Holt et al., 1994].

O impacto da fluorose observada nos estudos também é assunto polêmico. Apesar da menor expressão observada em indivíduos que utilizam dentifrício de baixa concentração, tal diferença pode ser questionada quanto à relevância clínica [Holt et al., 1994]. Tais achados corroboram com aqueles do estudo de Riordan (1993) que relatou declínio da fluorose dentária em uma região da Austrália após política de suspensão da prescrição de suplementos de F associada à indicação de dentifrício de 400-550 ppm de F para crianças menores de três anos de idade. Além disso, é importante contextualizar a baixa severidade de fluorose em muitos países. Dados regionais mostram expressão discreta desta alteração na população, principalmente quando se considera pontos de corte com repercussões estéticas [Barbachan e Silva and Maltz, 2001]. O discreto impacto populacional observado, aliado à aparente falta de auto-percepção da fluorose dentária, não parece interferir na qualidade de vida das crianças, adolescentes e dos seus respectivos responsáveis [Do and Spencer, 2007a].

A análise dos achados quanto à cárie dentária em indivíduos expostos a diferentes concentrações de F no dentifrício mostra que os dentifrícios de 500 ppm F são eficazes na prevenção de cárie. Ainda é questionada a equivalência de efeito comparado ao dentifrício 1000 ppm F [Ammari et al.,

2003; Warren and Levy, 1999]. Dados de estudos *in vitro* demonstram que o dentifrício 500 ppm F não apresenta equivalência de efeito comparado ao dentifrício 1100 ppm F. Considerando um desfecho intermediário observa-se que a perda mineral ultra-estrutural (microdureza superficial ou transversa) é superior na presença de dentifrício 500 ppm F [Alves et al., 2007; Brighenti et al., 2006; Queiroz et al., 2008]. Quanto a mensurações de fluoreto, não há consenso entre os estudos [Alves et al., 2007; Brighenti et al., 2006]. O único estudo *in situ* publicado não utiliza a formulação de dentifrício 500 ppm F disponível, apenas a formulação acidulada. Nesse experimento, o efeito do dentifrício 500 ppm F foi compatível ao convencional. O estudo *in situ* tem a vantagem de permitir o desenvolvimento de lesões cariosas no ambiente bucal, aferindo o desfecho em níveis ultraestruturais. É um modelo intermediário entre o clínico e o laboratorial, capaz de restringir variabilidade e aumentar a precisão dos desfechos. Sua aplicabilidade reside na possibilidade de mensurar desfechos em tempo limitado e garantindo menor heterogeneidade de resultados, característicos de tratamentos cujas diferenças não são tão expressivas [Zero, 1995].

Os quatro estudos clínicos que avaliaram o efeito dos dentifrícios de baixa concentração não mostram diferenças entre o número de indivíduos livres de cárie após três anos utilizando tais dentifrícios [Holt et al., 1994]. O número de dentes ou superfícies acometidas por cárie (CPO-S) [Biesbrock et al., 2003; Holt et al., 1994; Stookey et al., 2004] também não diferiram após 21 a 36 meses de exposição ao referido dentifrício. Entretanto, analisando um grupo populacional carente de assistência e recursos, diferentes graus de magnitude de efeito foram observados [Ellwood et al., 2004]. O número de crianças livres de cárie foi inferior nos indivíduos que usaram dentifrício 440 ppm F e a severidade de cárie foi maior nesse mesmo grupo experimental apenas para as crianças menos desassistidas. Tais achados apontam que demais fatores de vida são determinantes na resposta ao desafio cariogênico, implicando em diferentes necessidade de concentração de dentifrício. Autores sugerem que diante do baixo risco à cárie, dentifrícios com menor

concentração de flúor poderiam ter o mesmo efeito que os convencionais de 1000-1100 ppm F [Ellwood et al., 2004].

Uma meta-análise revisou o impacto das diferentes concentrações de fluoreto nos dentifrícios e incluiu somente oito estudos. Dentre eles, apenas cinco foram incluídos na análise comparando dentifrício de 1000 com 250 ppm F. Não foi realizada nenhuma análise relacionando o efeito do dentifrício 500 ppm F devido a restrição de estudos comparando este com o padrão. Apesar das diferenças nos critérios de diagnóstico (inclusão ou não de lesões cariosas sem cavidade), faixa etária observada (maioria dos estudos de 11-13 anos) e da análise individual dos estudos mostrar ausência de significância estatística para as diferenças médias do incremento de cárie, o resultado da meta-análise mostrou um incremento de superfícies cariadas e restauradas ($CO-S=0,66$) estatisticamente superior para o dentifrício de 250 ppm F [Ammari et al., 2003]. Portanto, uma concentração de F quatro vezes maior no dentifrício (1000 X 250 ppm F), resultou em 0,6 superfícies híginas a mais em comparação aos indivíduos que usaram dentifrício de 250 ppm F. Apesar dos estudos que relacionaram 500 com 1000 ppm de F não terem sido analisados no modelo estatístico, o efeito protetor do dentifrício 500 ppm F não parece ser inferior ao padrão. O estudo de Porto Rico [Stookey et al., 2004] que mostra uma redução no incremento de cárie significativamente superior do dentifrício 2800 em relação ao 1100, suporta a equivalência de efeito do dentifrício 500 ppm F, uma vez que tal ensaio clínico de porte populacional apresentou sensibilidade suficiente para identificar diferença entre 2800 e 1100, mostra que a compatibilidade de efeito na prevenção de cárie entre 500 e 1100 é bastante razoável.

O número reduzido de estudos encontrados pela presente revisão sistemática demonstra o discreto investimento científico nesta temática. Dentre os 9 estudos, quatro foram laboratoriais e cinco foram clínicos. Os estudos laboratoriais são unânimes em mostrar proteção anticárie diferenciada do dentifrício convencional em comparação aos de baixa concentração, exceto quando o pH do mesmo é acidificado. Considerando os estudos clínicos, todos apontam para a equivalência de efeito entre dentifrício

de baixa concentração e convencional, exceto quando seu efeito foi mensurado em crianças de diferentes perfis de atividade de cárie. A progressão das lesões cariosas foi maior em crianças com lesões ativas pré-existentes que usaram dentifrício de baixa concentração [Lima et al., 2008]. Portanto, diante da qualidade científica disponível até o momento, não há evidência de superioridade de efeito do dentifrício convencional em relação ao de baixa concentração, exceto quando o risco de cárie é grande ou na presença de atividade cariiosa.

Conclusões

O dentifrício de baixa concentração de fluoreto apresenta eficácia preventiva contra cárie dentária compatível ao dentifrício convencional, podendo ser recomendado a indivíduos sem atividade de cárie durante os primeiros anos de vida. Justifica-se ainda o desenvolvimento de delineamentos com amostras de diferentes características populacionais e com maior tempo de acompanhamento para mensurar a eficácia dos dentifrícios de baixa concentração de flúor em relação ao convencional.

Referências bibliográficas

- Alves KM, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FA, Buzalaf MA, Sasaki KT, Delbem AC: In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res* 2007;41:263-267.
- Ammari AB, Bloch-Zupan A, Ashley PF: Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above. *Caries Res* 2003;37:85-92.
- Ammari JB, Baqain ZH, Ashley PF: Effects of programs for prevention of early childhood caries. A systematic review. *Med Princ Pract* 2007;16:437-442.
- Barbachan e Silva B, Maltz M: [prevalence of dental caries, gingivitis, and fluorosis in 12-year-old students from porto alegre -- rs, brazil, 1998/1999]. *Pesqui Odontol Bras* 2001;15:208-214.
- Biesbrock AR, Bartizek RD, Gerlach RW, Jacobs SA, Archila L: Effect of three concentrations of sodium fluoride dentifrices on clinical caries. *Am J Dent* 2003;16:99-104.
- Brighenti FL, Delbem AC, Buzalaf MA, Oliveira FA, Ribeiro DB, Sasaki KT: In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. *Caries Res* 2006;40:239-244.
- Cochran JA, Ketley CE, Duckworth RM, van Loveren C, Holbrook WP, Seppa L, Sanches L, Polychronopoulou A, O'Mullane DM: Development of a standardized method for comparing fluoride ingested from toothpaste by 1.5-

- 3.5-year-old children in seven european countries. Part 2: Ingestion results. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004;32 Suppl 1:47-53.
- de Almeida BS, da Silva Cardoso VE, Buzalaf MA: Fluoride ingestion from toothpaste and diet in 1- to 3-year-old brazilian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2007;35:53-63.
- Do LG, Spencer A: Oral health-related quality of life of children by dental caries and fluorosis experience. *J Public Health Dent* 2007a;67:132-139.
- Do LG, Spencer AJ: Risk-benefit balance in the use of fluoride among young children. *J Dent Res* 2007b;86:723-728.
- Ellwood RP, Davies GM, Worthington HV, Blinkhorn AS, Taylor GO, Davies RM: Relationship between area deprivation and the anticaries benefit of an oral health programme providing free fluoride toothpaste to young children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004;32:159-165.
- Erdal S, Buchanan SN: A quantitative look at fluorosis, fluoride exposure, and intake in children using a health risk assessment approach. *Environ Health Perspect* 2005;113:111-117.
- Ericsson Y, Forsman B: Fluoride retained from mouthrinses and dentifrices in preschool children. *Caries Res* 1969;3:290-299.
- Featherstone JD: Prevention and reversal of dental caries: Role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999;27:31-40.
- Harris R, Nicoll AD, Adair PM, Pine CM: Risk factors for dental caries in young children: A systematic review of the literature. *Community Dent Health* 2004;21:71-85.
- Holt RD, Morris CE, Winter GB, Downer MC: Enamel opacities and dental caries in children who used a low fluoride toothpaste between 2 and 5 years of age. *Int Dent J* 1994;44:331-341.
- Khan A, Moola MH, Cleaton-Jones P: Global trends in dental fluorosis from 1980 to 2000: A systematic review. *Sadj* 2005;60:418-421.
- Koch G, Bergmann-Arnadottir I, Bjarnason S, Finnbogason S, Hoskuldsson O, Karlsson R: Caries-preventive effect of fluoride dentifrices with and without anticalculus agents: A 3-year controlled clinical trial. *Caries Res* 1990;24:72-79.
- Lima TJ, Ribeiro CC, Tenuta LM, Cury JA: Low-fluoride dentifrice and caries lesion control in children with different caries experience: A randomized clinical trial. *Caries Res* 2008;42:46-50.
- Lima YB, Cury JA: [fluoride intake by children from water and dentifrice]. *Rev Saude Publica* 2001;35:576-581.
- Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A: Systematic review of controlled trials on the effectiveness of fluoride gels for the prevention of dental caries in children. *J Dent Educ* 2003a;67:448-458.
- Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S: Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2003b:CD002278.
- Marthaler TM: Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 2004;38:173-181.
- Mascarenhas AK: Risk factors for dental fluorosis: A review of the recent literature. *Pediatr Dent* 2000;22:269-277.
- Mascarenhas AK, Burt BA: Fluorosis risk from early exposure to fluoride toothpaste. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998;26:241-248.
- McDonagh MS, Whiting PF, Wilson PM, Sutton AJ, Chestnutt I, Cooper J, Misso K, Bradley M, Treasure E, Kleijnen J: Systematic review of water fluoridation. *Bmj* 2000;321:855-859.

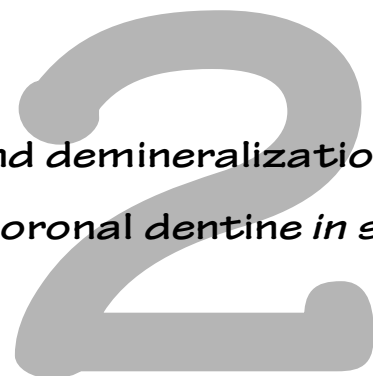
- Nobre-dos-Santos M, Rodrigues LK, Del-Bel-Cury AA, Cury JA: In situ effect of a dentifrice with low fluoride concentration and low pH on enamel remineralization and fluoride uptake. *J Oral Sci* 2007;49:147-154.
- Osuji OO, Leake JL, Chipman ML, Nikiforuk G, Locker D, Levine N: Risk factors for dental fluorosis in a fluoridated community. *J Dent Res* 1988;67:1488-1492.
- Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA: Ph-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz Dent J* 2008;19:21-27.
- Reed MW: Clinical evaluation of three concentrations of sodium fluoride in dentifrices. *J Am Dent Assoc* 1973;87:1401-1403.
- Reisine ST, Psoter W: Socioeconomic status and selected behavioral determinants as risk factors for dental caries. *J Dent Educ* 2001;65:1009-1016.
- Riordan PJ: Dental fluorosis, dental caries and fluoride exposure among 7-year-olds. *Caries Res* 1993;27:71-77.
- Ripa LW: A critique of topical fluoride methods (dentifrices, mouthrinses, operator-, and self-applied gels) in an era of decreased caries and increased fluorosis prevalence. *J Public Health Dent* 1991;51:23-41.
- Rolla G, Ogaard B, Cruz Rde A: Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: A review. *Int Dent J* 1991;41:171-174.
- Scabar LF, Armonia PL, Tortamano N, Barros FC, Mello JAJ: The fluoride dentifrice (500 ppm f) and the risk for dental fluorosis. *Rev Inst Cienc Saúde Pública* 2004;22:305-309.
- Schmid R, Afflitto J, Gaffar A: Cariostatic effects of monofluorophosphate in solutions and dentifrices in rats. *J Clin Dent* 1989;1:75-82.
- Siew Tan B, Razak IA: Fluoride exposure from ingested toothpaste in 4-5-year-old malaysian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005;33:317-325.
- Spencer AJ, Do LG: Changing risk factors for fluorosis among south australian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2008;36:210-218.
- Steiner M, Helfenstein U, Menghini G: Effect of 1000 ppm relative to 250 ppm fluoride toothpaste. A meta-analysis. *Am J Dent* 2004;17:85-88.
- Stookey GK: Review of fluorosis risk of self-applied topical fluorides: Dentifrices, mouthrinses and gels. *Community Dent Oral Epidemiol* 1994;22:181-186.
- Stookey GK, Mau MS, Isaacs RL, Gonzalez-Gierbolini C, Bartizek RD, Biesbrock AR: The relative anticaries effectiveness of three fluoride-containing dentifrices in puerto rico. *Caries Res* 2004;38:542-550.
- Sutherland SE: Evidence-based dentistry: Part iv. Research design and levels of evidence. *Journal (Canadian Dental Association)* 2001;67:375-378.
- Tan BS, Razak IA, Foo LC: Fluorosis prevalence among schoolchildren in a fluoridated community in malaysia. *Community Dent Health* 2005;22:35-39.
- Twetman S: Prevention of early childhood caries (ecc)--review of literature published 1998-2007. *Eur Arch Paediatr Dent* 2008;9:12-18.
- Twetman S, Axelsson S, Dahlgren H, Holm AK, Kallestal C, Lagerlof F, Lingstrom P, Mejare I, Nordenram G, Norlund A, Petersson LG, Soder B: Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: A systematic review. *Acta Odontol Scand* 2003;61:347-355.
- van Loveren C, Ketley CE, Cochran JA, Duckworth RM, O'Mullane DM: Fluoride ingestion from toothpaste: Fluoride recovered from the toothbrush, the expectorate and the after-brush rinses. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004;32 Suppl 1:54-61.
- Warren JJ, Levy SM: A review of fluoride dentifrice related to dental fluorosis. *Pediatr Dent* 1999;21:265-271.

Whitford GM, Allmann DW, Shahed AR: Topical fluorides: Effects on physiologic and biochemical processes. *J Dent Res* 1987;66:1072-1078.

Winter GB, Holt RD, Williams BF: Clinical trial of a low-fluoride toothpaste for young children. *Int Dent J* 1989;39:227-235.

Zero DT: In situ caries models. *Adv Dent Res* 1995;9:214-230; discussion 231-214.

“Low-fluoride dentifrice and demineralization on
deciduous enamel and coronal dentine *in situ*”



LOW-FLUORIDE DENTIFRICE AND DEMINERALIZATION ON DECIDUOUS ENAMEL AND CORONAL DENTINE *IN SITU*

Authors

^a Mariath, A. A. S.

^b Moi, G.

^b Tenuta, L. M

^b Cury, J. A.

^a Araujo, J. B.

^a Federal University Rio Grande do Sul, RS, Brazil

^b Faculty of Dentistry of Piracicaba, State University of Campinas, SP, Brazil

Running Title: Low-F dentifrice on deciduous enamel and dentin

Keywords: fluoride – deciduous teeth – dentifrice – demineralization

Abstract

This study aimed to evaluate demineralization of deciduous enamel and coronal dentine exposed to cariogenic challenges and treated with low-F dentifrice (500 µg F/g) in comparison with conventional dentifrice (1100 µg F/g). This *in situ* and crossover study was performed in three phases of 14 days each with a 7-day wash out period. During the experiment 15 volunteers wore palatal acrylic appliances containing 2 enamel and 2 coronal dentine deciduous slabs. In each phase the volunteers were randomly assigned to one of the following treatments: non-F dentifrice; low-F dentifrice or 1100 F-dentifrice. In order to submit the blocks to a cariogenic challenge, the volunteers dripped on them 20% sucrose solution 8x/day. The dentifrice slurries were applied 3 times a day over the slabs. After each phase, the dental biofilm formed on the deciduous enamel and dentine surfaces was collected for biochemical analysis and the mineral loss (cross-sectional microhardness-CSH) was assessed in the slabs. Tukey's test was used for post-ANOVA comparisons. The F concentration in biofilm was statistically

lower in placebo group compared to F-dentifrices groups, but no difference ($p>0.05$) was observed between low-F and 1100 F-dentifrice groups in enamel or in dentine. For the other analyses made, no significant differences among the groups were observed. The effect of F-dentifrices in enamel was observed only at 10 μm from the surface, but no significant difference was observed between low-F and 1100 F dentifrices. In dentine, the effect of 1100-F dentifrice was observed deeper, presenting significantly less mineral loss than low-F and non-F dentifrices. In conclusion, the low-F dentifrice is not effective as 1100 F-dentifrice in preventing mineral loss in deciduous dentine substrate.

Introduction

The use of fluoridated dentifrice has been considered the main reason for the declining of dental caries observed in the last decades in both developed and developing countries [Clarkson and McLoughlin, 2000; Cury et al., 2004]. Concurrently, an increase in the prevalence of dental fluorosis has also been recorded [Khan et al., 2005; McDonagh et al., 2000; Tan et al., 2005]. It has been observed that the worldwide use of fluoridated dentifrices has brought additional risk for fluorosis in addition to other fluoride (F), e.g. drinking water and fluoride supplements [Erdal and Buchanan, 2005].

In an effort to prevent dental caries and to decrease the risk of fluorosis, some actions have been indicated, such as advise parents to supervise tooth brushing of children under 6 years of age; apply a small amount of toothpaste (pea-size or smear); encourage spitting of the dentifrice foam and perform a water rinse; and the use of low-fluoride toothpaste ($<600 \mu\text{g F/g}$) [Ammari et al., 2003; Davies et al., 2003; Scabar et al., 2004; Siew Tan and Razak, 2005; Steiner et al., 2004; Tabari et al., 2000; van Loveren and Duggal, 2004]. In fact, a group of Australian children showed that all of these measures reduced (or could reduce) the risk of dental fluorosis [Do and Spencer, 2007].

Regarding the use of low-F dentifrice, there is no consensus about their anticaries efficacy [Ammari et al., 2003] and it has been shown that the low-F dentifrice is less effective than the 1100 F-dentifrice to control caries in

children presenting caries active lesions [Lima et al., 2008]. Therefore, the concentration of fluoride in a dentifrice should be taken into account on caries control [Ellwood et al., 2008], mainly considering the caries risk or activity.

Moreover, dentine is more caries susceptible than enamel [Hoppenbrouwers et al., 1987; ten Cate et al., 1995] and the effect of low-F dentifrice on dentine caries lesion progression is still unclear despite the recognized effect of fluoride on human permanent and bovine dentine [Hara et al., 2003; Lagerweij et al., 1997; ten Cate et al., 1998]. Also, the prevalence of caries lesions with dentine involvement is still high during the first years of life in some populations [Cleaton-Jones et al., 2006; Ferro et al., 2007a; Ferro et al., 2007b; Moura-Leite et al., 2008].

Therefore, this *in situ* study aimed to evaluate demineralization of deciduous enamel and coronal dentine exposed to cariogenic challenge and treated with low-fluoride dentifrice (500 μg F/g) compared to conventional dentifrice (1100 μg F/g).

Methods

Experimental design

This *in situ*, crossover and randomized study was performed in three phases of 14 days each, during which 15 healthy adult volunteers wore palatal appliances containing 2 enamel and 2 coronal dentine deciduous slabs in each side of the device. In each phase the volunteers were randomly assigned to one of the following treatments: non-fluoridated dentifrice, low-F (500 μg F/g) NaF dentifrice (Colgate Baby – Colgate-Palmolive) or conventional NaF-dentifrice (1100 μg F/g; Tandy, Colgate-Palmolive). Biofilm was allowed to accumulate on the slabs surfaces for 14 days and 20% sucrose solution was dripped extra-orally on the slabs 8x/day. After each phase, the biofilm formed on the enamel and dentine slabs was collected for analysis and demineralization was determined in the slabs. New appliances were made after each phase.

The F-dentifrices were bought in the market from different dealers, repackaged in plain white tubes and coded, an effort to ensure double

blindness of the study. However, different dentifrice could be discerned by the color and taste. Therefore, this study should be considered blind with regard to the examiners who were unable to identify the treatments.

Ethical Aspects

This study was approved by the Research and Ethics Committee of the Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil (51/06). The volunteers signed a written-informed consent. In addition, the parents of the donors of the deciduous molars used in this study signed a donation form. Clinicians not involved in this research made the decision for tooth extraction.

Dental slabs and palatal appliance preparations

Tooth slabs were prepared from deciduous molars from children between 7-9 years of age. After sterilization (storage in 2% buffered formalin solution, during 30 days), coronal dental slabs (3x3x4 mm) containing enamel and dentine were prepared. Enamel slabs (3x3x2 mm) were obtained by planning the dentine surface but not flattening the enamel surface. Dentine slabs (3x3x2) were obtained after planning the circumpulpal dentine, cutting out the enamel layer and flattening the subjacent dentine, which in turn was exposed in the palatal appliance for biofilm accumulation. Ninety enamel and 90 dentine slabs were prepared and randomly divided into the 3 groups, according to the treatments.

The dentine slabs were immersed for 24h in remineralizing solution containing 1.5 mM Ca, 0.9 mM P_i, 20.0 mM of Tris at pH 7.0, in order to stabilize the ionic changes between the tooth and the surrounding media, standardizing the mineral conditions of the slabs' surfaces [Hara et al., 2003].

Acrylic palatal appliances were made for each volunteer with four sites for slabs location (two enamel and two dentine slabs in each side of the same appliance). In order to allow biofilm accumulation, plastic meshes were fixed over the cavities containing slabs, leaving a 1-mm space on the slab surface [Hara et al., 2003].

Treatment procedures

In order to submit the blocks to cariogenic challenge, the volunteers were instructed to remove the device and drip 20% sucrose solution onto the blocks 8x/day, at 8am, 10am, 12am, 2pm, 4pm, 6pm, 8pm, 10pm [Cury et al., 1997]. Five minutes later, the device was gently washed with distilled water and re-inserted into the mouth.

During the three experimental phases the volunteers brushed 3 times a day their natural teeth with dentifrice supplied by the researchers. At this time, volunteers removed the appliance and dripped dentifrice slurry over the slabs (1:3 w/w in distilled water), and after 1 minute the appliance was replaced in the mouth. Considering the crossover design of this study, no diet restraint was recommended to the volunteers, but they were instructed to remove the palatal appliance during meals. During a 7-day pre-experimental period all volunteers used non-F dentifrice. The same dentifrice was provided in the 7-day wash out period between each experimental phase. The volunteers drank fluoridated water (0.7 mg F/L) and received instructions as previously described [Cury et al., 2000].

Dental biofilm analysis

On the 14th day of each experimental phase, approximately 10 hours after the last exposure to treatment solutions, the biofilm formed on the enamel and dentine slabs were collected separately. Pooled biofilms samples from each substrate were dried for 24h in vacuum over P₂O₅. Samples were treated with 100 µl of 0.5 M HCl/mg of dental biofilm dry weight. After 3 h at room temperature under constant agitation, the same volume of TISAB II pH 5.0 (containing 20 g NaOH/L) was added as a buffer [Cury et al., 1997]. The samples were then centrifuged at 10,000 g for 5 min at room temperature and the supernatant retained for determination of acid-soluble fluoride (F), calcium (Ca), inorganic phosphorous (P_i) and soluble extracellular polysaccharides (SEPS) [Cury et al., 1997]. The resultant pellet was washed with 200 µl of H₂O dd, and insoluble EPS extraction (IEPS) was made with 200 µl of 1 M NaOH/mg of dental biofilm dry weight, under agitation for 15

min. The pellet remaining was washed with 200 µl of H₂O dd and treated with 200 µl of 1 M NaOH/mg of dental biofilm dry weight, during 15 min at 100°C for intracellular polysaccharide (IPS) extraction [Aires et al., 2008; Cury et al., 2000].

Fluoride was analyzed using an ion-selective electrode (Orion 96-09; Boston, MA) and an ion analyzer (Orion EA-940), as previously described [Cury et al., 1997], Ca and P_i were determined colorimetrically with Arsenazo III and malachite green/molybdate, respectively [Vogel et al., 1983]. The concentration of polysaccharides (SEPS, IEPS IPS) presents in the supernatants was estimated by phenol sulphuric method [Dubois et al., 1956], using glucose as standard.

Enamel and coronal dentine demineralization assessment

Enamel and dentine slabs were removed from the appliances and longitudinally sectioned through the center. Cross-sectional microhardness (CSH) was measured using a microhardness tester (Future-Tech FM Corp., Japan), coupled to FM-ARS software. Three rows of 13 indentations spaced 150 µm were made with Knoop diamond under a 25 g load during 5 s for enamel (Cury et al., 2000) and 5 g during 5 s for coronal dentine slabs (Aires et al., 2001) at 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 and 200 µm from the outer enamel and coronal dentine surface in the central region of dental slab. The data of the two enamel and dentine slabs were averaged.

The data were expressed as Knoop hardness number (KHN) rather than in mineral loss since there is a discrepancy in the literature regarding conversion of hardness to mineral concentration [Featherstone et al., 1983; Kielbassa et al., 1999].

Statistical analysis

The analysis was done with SAS software (SAS Institute Inc., version 8.01, Cary, NC, USA), with a significance level fixed at 0.05. Volunteers were considered as statistical blocks. The assumption of equality of variances and

normal distribution of errors were checked, and data that violated these statistical principles were transformed [Kirkwood and Sterne, 2007]. For the analysis of biofilm formed on enamel slabs, data of F and Pi were transformed to the inverse of the square root; data of Ca and IPS were transformed to the \log_{10} ; data of SEPS were transformed to the inverse and data of IEPS to the square root. For the analysis of biofilm formed on dentine slabs, data of F and Ca were transformed to the inverse of the square root; and data of Pi, SEPS, IEPS and IPS to the \log_{10} [Box et al., 1978]. Data of microhardness analyses fit the assumptions and were not transformed. Tukey test was then used for post-ANOVA comparisons.

Results

Enamel demineralization (Figure 1) at 10 μm from the surface was significantly larger in non-fluoride group ($p < 0.05$) compared to dentifrices groups. Between 500 and 1100 groups no statistically difference ($p > 0.05$) was observed. In the other distances the three groups did not differ statistically ($p > 0.05$).

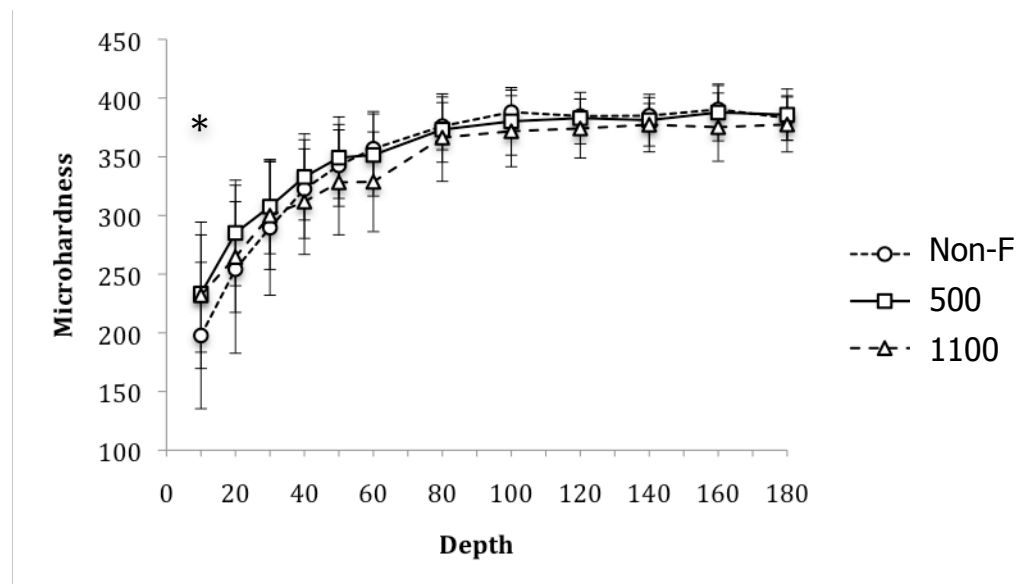


Figure 1. Microhardness of enamel according to treatments and distance from the surface. Asterisk shows significance difference among non-F and F-dentifrices at the first depth.

In dentine (Figure 2), fluoride dentifrices (500 and 1100) were statistically ($p < 0.05$) more effective reducing demineralization at the first three depths from the surface (10, 20, 30 μm) than non-fluoride, but the difference between them was not significant ($p > 0.05$). At the three subsequently depths (40, 50, 60 μm), the 1100 F-dentifrice was more effective than non-fluoride ($p < 0.05$) reducing demineralization.

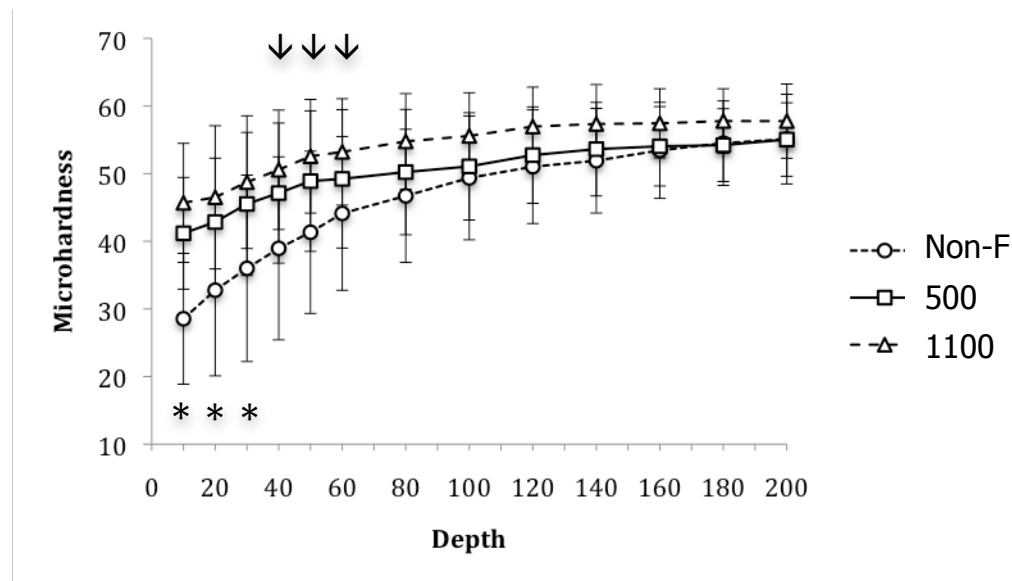


Figure 2. Microhardness of dentin according to treatments and distance from the surface. Symbols: asterisks show significant difference between non-F and the F-dentifrices; arrows show significant difference between non-F and the 1100 F-dentifrice.

Regarding the composition of the biofilms formed either on enamel or dentine slabs (Table 1), F concentration was statistically higher ($p < 0.05$) for the treatments with the fluoride dentifrices compared with the non-fluoride, but no difference ($p > 0.05$) was observed between 500 and 1100 groups. For the other analyses made, the difference among the groups were not significant ($p > 0.05$).

Table 1. Mean (\pm SD; n=15) of fluoride concentration ($\mu\text{mol/g}$) in biofilm formed on enamel and dentine slabs according to the treatments.

Treatment	Enamel	Dentin
Non-F dentifrice	0.53 \pm 0.38 a	0.53 \pm 0.28 a
500 F-dentifrice	2.37 \pm 2.82 b	3.27 \pm 5.1 b
1100 F-dentifrice	9.51 \pm 15.74*b	3.9 \pm 4.6 b

Treatments followed by distinct letters differ statistically ($p < 0.05$)

* outliers removed from the statistical analysis

Discussion

Results of previous *in vitro* and *in situ* studies have clearly shown the ability of fluoride dentifrice to reduce either enamel or dentine demineralization from permanent teeth when submitted to cariogenic environment [Cenci et al., 2008; Cury et al., 2001; Duggal et al., 2001; Hara et al., 2003; Lagerweij et al., 1997; Paes Leme et al., 2004; Page, 1991; ten Cate et al., 1998; Zaura et al., 2005]. The findings of the present study showed that F-dentifrices are also effective in reducing demineralization of deciduous enamel and dentine submitted to a cariogenic challenge compared to non-F dentifrice.

However, while the effect of F-dentifrices on enamel was observed only at the most superficial microhardness measurement, on dentine the effect was found deeper. Also, it was possible to find differences between the 1100 F and the low-F dentifrices only for dentine, and not for enamel. The explanation of these findings should consider the cariogenic challenge of the present *in situ* study and the different properties of enamel and dentine. The sucrose solution concentration and frequency of application used in this study were previously validated as a high cariogenic challenge able to simulate high caries risk [Cury et al., 1997]. Nevertheless, the small caries lesion dimension observed in enamel exposed to non-F dentifrice clearly shows the restricted cariogenic challenge produced in our experiment. This was also confirmed by the fact that the depth of caries lesion in dentine was bigger than in enamel, providing a distinction between low-F and 1100 F-dentifrices. Moreover, the method of dentifrice application with a 3 times-a-day frequency may be a

decisive factor for the lack of distinction between 500 and 1100 F-dentifrices, since highly frequent low concentrations of F in saliva may be sufficient for maintaining remineralization and preventing demineralization [Brown, 1974; ten Cate and Duijsters, 1983b].

There is still need for information on caries development in deciduous substrates in the literature. Clinical studies showed that the mean time that a caries lesion remains radiographically restricted to enamel in permanent teeth is two times higher than that observed in deciduous teeth [Pitts, 1983]. Deciduous enamel is considered more susceptible to caries than permanent enamel [Vanderas et al., 2003]. Additionally, the fluoride effect in deciduous enamel is smaller than that observed in permanent enamel [Sonju Clasen et al., 1997]. Corroborating previous evidences, only one *in situ* experiment compared deciduous and permanent slabs treated with 1100 F and non-F dentifrices [Moi et al., 2005] and that study showed a faster mineral loss in deciduous substrate in fluoridated and non-F groups. Some characteristics of deciduous teeth increases the susceptibility of caries progression, e.g. lower degree of mineralization, lower content of phosphorous and higher content of carbon dioxide [Sonju Clasen et al., 1997]. In addition, deciduous enamel prisms are narrower than those in permanent enamel [Mortimer, 1970] and also present less fluoride into enamel structure [Mellberg et al., 1970].

The study of dentine lesion formation in the presence of F-dentifrice could increase the understanding of the higher caries progression rate in deciduous teeth [Pitts, 1983]. The advanced mineral loss in deep dentine with 500 F-dentifrice evidenced the need for higher amount of F in deeper caries lesion. It is clear that the bigger the cariogenic challenge, the higher amount of F is necessary. The ability of F-dentifrice in reducing dentine mineral loss has been demonstrated *in vitro* [Mukai et al., 2001; Zaura et al., 2005], *in situ* [Hara et al., 2003; Nyvad et al., 1997] and by one clinical trial [Baysan et al., 2001]. An *in situ* study evaluated the remineralization of deciduous dentine caries exposed to dentifrice adjuvant to topical fluoride application (12300 ppm F), proving the F-dentifrice ability in mineral and hardness recover in deciduous dentine comparable to permanent dentine [Pitoni,

2007]. Although the different experimental design of the last study, it also demonstrates the deciduous dentine reactivity to fluoride treatment in repairing mineral loss. Despite no parallel comparison was made between enamel and dentine, a bigger mineral loss was evident, but it was still smaller than that observed in previous studies [Aires et al., 2002; Hara et al., 2003; Pitoni, 2007]. The fluoridated dentifrice has been established to be able to reduce caries in dentine [Ekstrand et al., 2008; Hara et al., 2003; Jensen and Kohout, 1988; Nyvad et al., 1997]. Nevertheless, to the best of our knowledge this is the first finding showing the anticaries properties of F-dentifrice in deciduous human dentine. The similar preventive effect observed only in the inner dentine lesion with 500 compared to 1100 F-dentifrices highlight that the low-F dentifrice has a limited ability in preventing dentine mineral loss. In an attempt to generalize the presented findings in the light of those from clinical data [Lima et al., 2008], it can be said that the benefit of low-F dentifrice seems to be equivalent to conventional (1100 F) dentifrice if caries risk/activity is not extremely high. The randomized clinical trial by Lima et al. showed that caries-free children (no active caries lesion detected at baseline) using 500 or 1100 F-dentifrice did not differ regarding lesion progression and, conversely, in the caries-active group children using 500 F-dentifrice had significantly ($p < 0.05$) more lesion progression after one year. Thus, different caries risk profiles determined the need of distinctive amounts of fluoride in dentifrices for the prevention of caries progression.

During the cariogenic challenge, the biofilm composition is determined by the sucrose frequency and concentration [Paes Leme et al., 2004] resulting in reduced content of Ca, Pi and F [Aires et al., 2006; Cury et al., 1997; Ribeiro et al., 2005]. Additionally, intracellular polysaccharide, insoluble and soluble SEPS decrease in cariogenic conditions. In this study the cariogenic challenge was maintained in all experimental groups and phases, since no significant differences were observed between the dentifrice groups. The F content in biofilm formed on enamel and dentine was statistically lower in non-F group. No significant difference was observed between low-F and 1100 F-dentifrices (Table 1). At the moment, there is no available F

concentration data in dental biofilm formed in the presence of 500 and 1100 F-dentifrices. *In vitro* findings showed lower F content in enamel biopsies after pH cycling and treatment slurries of 550 F-dentifrices compared to 1100 F-dentifrices [Alves et al., 2007; Brighenti et al., 2006], but caution must be taken comparing *in situ* with *in vitro* findings. However, in spite of previous studies demonstrating lower fluoride content on enamel surface [Brighenti et al., 2006] or even in saliva [Olympio et al., 2007] after exposure to 500 F and 1100 F-dentifrices, this significant difference may not be sufficient to increase the risk of mineral loss during the cariogenic challenge once there was not a marked difference in the mineral loss profile in enamel and dentine after 14-days of cariogenic challenge in the presence of 500 and 1100 F-dentifrices. Furthermore, some studies have indicated that F concentration as low as 0,1 ppm may be sufficient to enhance crystal growth [Brown, 1974] which is an important process during remineralization. Additionally, low fluoride levels have also been shown to significantly inhibit enamel and dentin demineralization [ten Cate et al., 1995; ten Cate and Duijsters, 1983a]. Thus, it is likely that, the level of fluoride in saliva and biofilm with 500 F-dentifrice may alter the balance between dissolution and crystal growth as much as 1100 F-dentifrice.

Some guidelines pointed the need for a caries risk/activity assessment to prescribe a specific fluoride dentifrice [Spencer, 2006]. It claims for recommendations for some fluoride vehicles being made at large scale populations, while other recommendations are appropriate only for individuals or groups of individuals with a elevated risk of developing dental caries. There is a need to balance the caries preventive effect of fluoridated dentifrices with the risk of dental fluorosis [Khan et al., 2005]. In this reasoning the commencement of tooth cleaning with F-dentifrices should be recommended for specific population groups or individuals [Bloch-Zupan, 2001]. In Australia, it was observed the additional use of fluoridated dentifrice while cleaning teeth does not confer any further benefit in preventing caries later in children before the age of 18-24 months. In contrast, the risk of fluorosis is elevated among children who begun to use F-dentifrices before 30 months of age. It

was also observed that the use of 400-550 F-dentifrice was associated with a significantly lower prevalence of fluorosis in comparison to 1100-1450 ppm F [Do and Spencer, 2007]. A risk assessment study pointed that the large amount of dentifrice as a risk factor for children who used 1000 F-dentifrice. Eating/licking dentifrice during the oral hygiene was also considered a risk factor for fluorosis for children using either 1000 or 400–550 F-dentifrice [Spencer and Do, 2008]. However, this finding must be viewed in the context of a South Australian population, that had widespread water fluoridation. Probably, exposure to conventional F-dentifrices may be more important during early ages among children in non-fluoridated areas.

In a modern and minimal invasive dentistry approach the goal is to prevent or intercept the occurrence of the disease progress with minimal tissue loss. It is also the aim to achieve the prevention with minimal interventional practice. In this regard, the use of 500 F-dentifrice is the best cost-benefit indication for 3-4 years-old children considering the clinical evidence of the existence of an equivalent effect of 500 and 1100 F-dentifrices in caries increment [Biesbrock et al., 2003; Do and Spencer, 2007; Ellwood et al., 2004; Holt et al., 1994; Stookey et al., 2004]. Nevertheless, an important exception is heading for high caries-risk children, since the 1100 F-dentifrice demonstrated better effect compared to the 500 F-dentifrice in caries lesion progression. An effort must be made to develop clinical studies with large sample sizes to define the prescription of 500 and 1100 F-dentifrice with best scientific evidence.

Conclusions

Considering the cariogenic challenge applied in this study, it was concluded that the low-F dentifrice was effective in preventing mineral loss in enamel but not as effective as the 1100 F-dentifrice in deciduous dentine substrate.

References

- Aires CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Klein MI, Koo H, Duarte S, Cury JA: Effect of starch and sucrose on dental biofilm formation and on root dentine demineralization. *Caries Res* 2008;42:380-386.
- Aires CP, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Cury JA: Effect of a lactose-containing sweetener on root dentine demineralization in situ. *Caries Res* 2002;36:167-169.
- Aires CP, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Koo H, Cury JA: Effect of sucrose concentration on dental biofilm formed in situ and on enamel demineralization. *Caries Res* 2006;40:28-32.
- Alves KM, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FA, Buzalaf MA, Sasaki KT, Delbem AC: In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res* 2007;41:263-267.
- Ammari AB, Bloch-Zupan A, Ashley PF: Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above. *Caries Res* 2003;37:85-92.
- Baysan A, Lynch E, Ellwood R, Davies R, Petersson L, Borsboom P: Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5,000 and 1,100 ppm fluoride. *Caries Res* 2001;35:41-46.
- Biesbrock AR, Bartizek RD, Gerlach RW, Jacobs SA, Archila L: Effect of three concentrations of sodium fluoride dentifrices on clinical caries. *Am J Dent* 2003;16:99-104.
- Bloch-Zupan A: Is the fluoride concentration limit of 1,500 ppm in cosmetics (eu guideline) still up-to-date? *Caries Res* 2001;35 Suppl 1:22-25.
- Box G, Hunter WG, Hunter JS: *Statistics for experimenters*. New York, John Wiley and Sons Inc., 1978.
- Brighenti FL, Delbem AC, Buzalaf MA, Oliveira FA, Ribeiro DB, Sasaki KT: In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. *Caries Res* 2006;40:239-244.
- Brown WE: Physicochemical mechanisms of dental caries. *J Dent Res* 1974;53:204-216.
- Cenci MS, Tenuta LM, Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Ten Cate JM, Cury JA: Effect of microleakage and fluoride on enamel-dentine demineralization around restorations. *Caries Res* 2008;42:369-379.
- Clarkson JJ, McLoughlin J: Role of fluoride in oral health promotion. *Int Dent J* 2000;50:119-128.
- Cleaton-Jones P, Fatti P, Bonecker M: Dental caries trends in 5- to 6-year-old and 11- to 13-year-old children in three unicef designated regions--sub saharan africa, middle east and north africa, latin america and caribbean: 1970-2004. *Int Dent J* 2006;56:294-300.
- Cury JA, Hashizume LN, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP: Effect of dentifrice containing fluoride and/or baking soda on enamel demineralization/remineralization: An in situ study. *Caries Res* 2001;35:106-110.
- Cury JA, Rebello MA, Del Bel Cury AA: In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res* 1997;31:356-360.
- Cury JA, Rebelo MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP: Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res* 2000;34:491-497.
- 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.

- Davies RM, Ellwood RP, Davies GM: The rational use of fluoride toothpaste. *Int J Dent Hyg* 2003;1:3-8.
- Do LG, Spencer AJ: Risk-benefit balance in the use of fluoride among young children. *J Dent Res* 2007;86:723-728.
- Dubois M, Gillis K, Hamilton J, Rebers P, Smith F: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt Chem* 1956;28:350-356.
- Duggal MS, Toumba KJ, Amaechi BT, Kowash MB, Higham SM: Enamel demineralization in situ with various frequencies of carbohydrate consumption with and without fluoride toothpaste. *J Dent Res* 2001;80:1721-1724.
- Ekstrand K, Martignon S, Holm-Pedersen P: Development and evaluation of two root caries controlling programmes for home-based frail people older than 75 years. *Gerodontology* 2008;25:67-75.
- Ellwood R, Fejerskov O, Cury JA, Clarkson B: Fluorides in caries control.; in Fejerskov O, Kidd E (eds): *Dental caries the disease and its clinical management*. Oxford, UK, 2008, pp 287-327.
- Ellwood RP, Davies GM, Worthington HV, Blinkhorn AS, Taylor GO, Davies RM: Relationship between area deprivation and the anticaries benefit of an oral health programme providing free fluoride toothpaste to young children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004;32:159-165.
- Erdal S, Buchanan SN: A quantitative look at fluorosis, fluoride exposure, and intake in children using a health risk assessment approach. *Environ Health Perspect* 2005;113:111-117.
- Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J: Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983;17:385-391.
- Ferro R, Besostri A, Meneghetti B, Stellini E: Prevalence and severity of dental caries in 5- and 12-year old children in the veneto region (italy). *Community Dent Health* 2007a;24:88-92.
- Ferro R, Besostri A, Olivieri A, Stellini E, Mazzoleni S: Preschoolers' dental caries experience and its trend over 20 years in a north-east italian health district. *Eur J Paediatr Dent* 2007b;8:199-204.
- Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA: Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 2003;37:339-344.
- Holt RD, Morris CE, Winter GB, Downer MC: Enamel opacities and dental caries in children who used a low fluoride toothpaste between 2 and 5 years of age. *Int Dent J* 1994;44:331-341.
- Hoppenbrouwers PM, Driessens FC, Borggreven JM: The mineral solubility of human tooth roots. *Arch Oral Biol* 1987;32:319-322.
- Jensen ME, Kohout F: The effect of a fluoridated dentifrice on root and coronal caries in an older adult population. *J Am Dent Assoc* 1988;117:829-832.
- Khan A, Moola MH, Cleaton-Jones P: Global trends in dental fluorosis from 1980 to 2000: A systematic review. *Sadj* 2005;60:418-421.
- Kielbassa AM, Wrbas KT, Schulte-Monting J, Hellwig E: Correlation of transversal microradiography and microhardness on in situ-induced demineralization in irradiated and nonirradiated human dental enamel. *Arch Oral Biol* 1999;44:243-251.
- Kirkwood B, Sterne J: *Essencial medical statistics*, ed 2nd, Blackwell Science, 2007.
- Lagerweij MD, Damen JJ, ten Cate JM: Effect of a fluoridated toothpaste on lesion development in plaque-filled dentine grooves: An intra-oral study. *Caries Res* 1997;31:141-147.

- Lima TJ, Ribeiro CC, Tenuta LM, Cury JA: Low-fluoride dentifrice and caries lesion control in children with different caries experience: A randomized clinical trial. *Caries Res* 2008;42:46-50.
- McDonagh MS, Whiting PF, Wilson PM, Sutton AJ, Chestnutt I, Cooper J, Misso K, Bradley M, Treasure E, Kleijnen J: Systematic review of water fluoridation. *Bmj* 2000;321:855-859.
- Mellberg JR, Nicholson CR, Miller BG, Englander HR: Acquisition of fluoride in vivo by enamel from repeated topical sodium fluoride applications in a fluoridated area: Final report. *J Dent Res* 1970;49:Suppl:1473-1477.
- Moi GP, Paes Leme AF, Tabchoury CM, Cury JA, Araujo FB: Avaliação in situ da composição do biofilme e da progressão de lesões cáries em esmalte de dentes decíduos e permanentes humanos na presença e na ausência de dentifício fluoretado; in. Porto Alegre, Faculdade de Odontologia-UFRGS, 2005, vol Dissertação (Mestrado Clínica Odontológica), p 62 f.
- Mortimer KV: The relationship of deciduous enamel structure to dental disease. *Caries Res* 1970;4:206-223.
- Moura-Leite FR, Ramos-Jorge ML, Bonanato K, Paiva SM, Vale MP, Pordeus IA: Prevalence, intensity and impact of dental pain in 5-year-old preschool children. *Oral health & preventive dentistry* 2008;6:295-301.
- Mukai Y, Lagerweij MD, ten Cate JM: Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root surface caries in vitro. *Caries Res* 2001;35:317-324.
- Nyvad B, ten Cate JM, Fejerskov O: Arrest of root surface caries in situ. *J Dent Res* 1997;76:1845-1853.
- Olympio KP, Bardal PA, Cardoso VE, Oliveira RC, Bastos JR, Buzalaf MA: Low-fluoride dentifrices with reduced ph: Fluoride concentration in whole saliva and bioavailability. *Caries Res* 2007;41:365-370.
- Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA: In situ effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after apf application and f dentifrice use. *J Dent Res* 2004;83:71-75.
- Page DJ: A study of the effect of fluoride delivered from solution and dentifrices on enamel demineralization. *Caries Res* 1991;25:251-255.
- Pitoni CM: Efeito de fluoretos na remineralização de lesões dentinárias: Estudo in situ; in. Florianópolis, UFSC, 2007, vol Doutorado, p 76.
- Pitts NB: Monitoring of caries progression in permanent and primary posterior approximal enamel by bitewing radiography. *Community Dent Oral Epidemiol* 1983;11:228-235.
- Ribeiro CC, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Rosalen PL, Cury JA: Effect of starch on the cariogenic potential of sucrose. *The British journal of nutrition* 2005;94:44-50.
- Scabar LF, Armonia PL, Tortamano N, Barros FC, Mello JAJ: The fluoride dentifrice (500 ppm f) and the risk for dental fluorosis. *Rev Inst Cienc Saúde Pública* 2004;22:305-309.
- Siew Tan B, Razak IA: Fluoride exposure from ingested toothpaste in 4-5-year-old malaysian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005;33:317-325.
- Sonju Clasen AB, Ogaard B, Duschner H, Ruben J, Arends J, Sonju T: Caries development in fluoridated and non-fluoridated deciduous and permanent enamel in situ examined by microradiography and confocal laser scanning microscopy. *Adv Dent Res* 1997;11:442-447.
- Spencer A: The use of fluorides in australia: Guidelines *Australian Dental Journal* 2006;51:195-199.

- Spencer AJ, Do LG: Changing risk factors for fluorosis among south australian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2008;36:210-218.
- Steiner M, Helfenstein U, Menghini G: Effect of 1000 ppm relative to 250 ppm fluoride toothpaste. A meta-analysis. *Am J Dent* 2004;17:85-88.
- Stookey GK, Mau MS, Isaacs RL, Gonzalez-Gierbolini C, Bartizek RD, Biesbrock AR: The relative anticaries effectiveness of three fluoride-containing dentifrices in puerto rico. *Caries Res* 2004;38:542-550.
- Tabari ED, Ellwood R, Rugg-Gunn AJ, Evans DJ, Davies RM: Dental fluorosis in permanent incisor teeth in relation to water fluoridation, social deprivation and toothpaste use in infancy. *Br Dent J* 2000;189:216-220.
- Tan BS, Razak IA, Foo LC: Fluorosis prevalence among schoolchildren in a fluoridated community in malaysia. *Community Dent Health* 2005;22:35-39.
- ten Cate JM, Buijs MJ, Damen JJ: Ph-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentrations of fluoride. *Eur J Oral Sci* 1995;103:362-367.
- ten Cate JM, Damen JJ, Buijs MJ: Inhibition of dentin demineralization by fluoride in vitro. *Caries Res* 1998;32:141-147.
- ten Cate JM, Duijsters PP: Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. *Caries Res* 1983a;17:193-199.
- ten Cate JM, Duijsters PP: Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. Ii. Microradiographic data. *Caries Res* 1983b;17:513-519.
- van Loveren C, Duggal MS: Experts' opinions on the role of diet in caries prevention. *Caries Res* 2004;38 Suppl 1:16-23.
- Vanderas AP, Manetas C, Koulatzidou M, Papagiannoulis L: Progression of proximal caries in the mixed dentition: A 4-year prospective study. *Pediatr Dent* 2003;25:229-234.
- Vogel GL, Chow LC, Brown WE: A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. *Caries Res* 1983;17:23-31.
- Zaura E, van Loveren C, ten Cate JM: Efficacy of fluoride toothpaste in preventing demineralization of smooth dentin surfaces and narrow grooves in situ under frequent exposures to sucrose or bananas. *Caries Res* 2005;39:116-122.

*“Subtração radiográfica digital
como meio de aferição de perda mineral
em esmalte e dentina de dentes decíduos”*

SUBTRAÇÃO RADIOGRÁFICA DIGITAL COMO MEIO DE AFERIÇÃO DE PERDA MINERAL EM ESMALTE E DENTINA DE DENTES DECÍDUOS

Autores

Adriela Azevedo Souza Mariath*

Alex Nogueira Haas**

Vânia Regina Camargo Fontanella***

Fernando Borba de Araujo****

Titulação

* Mestre e Doutranda em Odontologia-Odontopediatria UFRGS

** Mestre e Doutor em Odontologia-Periodontia UFRGS, Professor Adjunto de Periodontia UFRGS

*** Mestre e Doutor em Odontologia-Estomatologia PUCRS, Professor Adjunto do Departamento de Diagnóstico ULBRA

**** Mestre e Doutor em Odontologia UFRGS, Professor Adjunto Clínica Infante-juvenil da UFRGS

Palavras-chave: cárie dentária – radiografia digital – esmalte – dentina – dentes decíduos – estudos de validação

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a subtração radiográfica digital, comparada à microdureza transversa, como método de detecção de perda mineral em esmalte e dentina decíduos expostos ao desafio cariogênico. Lesões cariosas foram desenvolvidas em um modelo experimental *in situ* de 14 dias com exposição a dentifrícios (sem flúor, 500 e 1100ppm de fluoreto). Blocos de esmalte e dentina foram radiografados antes e após o experimento. As imagens foram sobrepostas, e a intensidade de pixel foi mensurada por um examinador calibrado em uma área padronizada no centro do bloco e em três sítios controle fora do bloco. Considerando toda amostra, a subtração

radiográfica indicou uma diminuição da intensidade de pixel de 0,80 e 0,58 tons de cinza em esmalte e em dentina, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas entre as formulações de dentifrício quando a perda mineral foi avaliada por subtração radiográfica, diferentemente da perda mineral aferida pela microdureza. De maneira geral, coeficientes de correlação não significativos e $<0,3$ foram observados entre microdureza (ΔS) e intensidade de pixel, independentemente da concentração de flúor no dentifrício. A subtração radiográfica não foi efetiva para detectar a perda mineral em esmalte. Em dentina, houve correlação significativa entre o ΔS e a subtração radiográfica somente no grupo do dentifrício placebo ($\beta=180$; $p=0,01$). Os achados do presente estudo não suportam o uso da subtração radiográfica como único meio de aferição de perda mineral em modelos experimentais cuja magnitude de perda mineral seja compatível a da presente pesquisa.

Introdução

Modelos experimentais de cárie *in vitro* e *in situ* [Cury et al., 2001a; Cury et al., 2000; ten Cate et al., 1998; Zero, 1995] tem sido aplicados com o intuito de quantificar perda mineral em esmalte e dentina por meio de micro-radiografia [ten Cate et al., 1998] e microdureza transversais [Cury et al., 2001a; Cury et al., 1997]. Entretanto, estes são métodos que exigem o preparo da amostra para realização da técnica de mensuração, inviabilizando desenhos experimentais que mensurem na mesma amostra diferentes efeitos terapêuticos.

A subtração radiográfica digital é uma técnica que permite determinar diferenças bastante discretas entre duas imagens radiográficas, imperceptíveis à observação visual. Sobrepondo-se dois registros radiográficos, é possível gerar uma terceira imagem, na qual toda área radiografada que não apresenta modificação entre os dois momentos de registro resultará em um fundo cinza neutro, com valor de intensidade de pixel muito próximo a 128. Em contrapartida, aquelas áreas com diferenças entre as duas imagens resultarão em uma mudança de tom de cinza mais

claro ou mais escuro, cujos valores serão, respectivamente, maiores ou menores do que 128 [Ricketts et al., 2007; Versteeg and van der Stelt, 1995].

Estudos laboratoriais mostraram uma qualificada acurácia de sistemas de radiografia digital direta e subtração radiográfica na identificação de perdas minerais incipientes comparados a outros métodos radiográficos convencionais [Ferreira et al., 2006; Ricketts et al., 2007]. No nosso entendimento, este é o primeiro estudo a avaliar perda mineral através da subtração radiográfica em relação à microdureza transversa em um modelo estudo *in situ* de desmineralização de esmalte e dentina. O uso da subtração radiográfica digital em estudos de indução de lesão cáriosa possibilitaria a mensuração de diferentes efeitos terapêuticos, uma vez que a subtração não altera o espécime inviabilizando seu uso em outras análises laboratoriais. O objetivo deste estudo foi avaliar a subtração radiográfica digital, comparada à microdureza transversa, como método de detecção de perda mineral em esmalte e dentina decíduos expostos *in situ* ao desafio cariogênico.

Metodologia

Delineamento Experimental

Este estudo experimental foi desenvolvido a partir da formação da lesão cáriosa *in situ* em esmalte e dentina de dentes decíduos que objetivou avaliar o efeito anti-cárie de dentifrícios com diferentes concentrações de flúor em comparação a um dentifrício sem flúor (Mariath et al., 2009). Durante três períodos de 14 dias, 15 mulheres (adultas e saudáveis) utilizaram dispositivos palatinos contendo dois blocos de esmalte e dois de dentina previamente radiografados. Estes foram expostos à solução de sacarose 20% (oito vezes ao dia) com o intuito de desenvolver a lesão cáriosa. Em cada um dos três períodos experimentais, cada indivíduo utilizou três vezes ao dia uma das seguintes soluções de dentifrícios (diluídos 1:3 com água destilada): dentifrício sem flúor (placebo); dentifrício 500 ppm F (NaF, Colgate Baby®); e dentifrício 1100 ppm F (NaF, Tandy®).

Amostra e preparo dos blocos

Dentes decíduos humanos íntegros foram selecionados após extração no Ambulatório de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FO-UFRGS) e armazenados em solução de formalina a 2% (pH 7,0), preparada com tampão fosfato [Cury et al., 2001b; White and Featherstone, 1987], sob refrigeração (4° C) por um período mínimo de 30 dias e máximo de 6 meses.

No total, foram confeccionados 90 blocos de esmalte e 90 de dentina, medindo 3x3x2 mm [Cury et al., 2000]. Os molares decíduos foram fatiados selecionando a porção mais plana do esmalte para confecção do bloco de esmalte nas dimensões citadas. A dentina coronária foi exposta após corte do esmalte e posteriormente as medidas ajustadas em cortadeira (ISOMET Low Speed Saw, Buehler®, USA) até chegar a dimensão definida. Lixas d'água 1000 e 1200 foram utilizadas a fim de remover as ranhuras produzidas pelo disco da cortadeira, evitando maior retenção de biofilme durante o experimento. Todos os blocos foram lavados em ultrassom (durante um minuto), armazenados em recipientes plásticos (identificados) fechados e mantidos sob umidade (4° C) até o início do experimento.

Microdureza Transversa

Após cada fase experimental, todos blocos foram seccionados longitudinalmente [Cury et al., 2000], embutidos em resina epóxi (Araldite) e levados ao microdurômetro semi-automático (Future-Tech FM Corp., Japan), no qual três linhas de endentações do centro da superfície aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 e 200 µm foram realizadas com 25 g por 5 s em esmalte e 10 g por 5 s em dentina determinando a microdureza transversa (MDT).

A microdureza knoop correspondente a cada profundidade de mensuração foi convertida em ΔS , que representa a área da redução da microdureza ou perda mineral. Para fins de cálculo, o padrão hígido foi determinado individualmente nos espécimes considerando a média da microdureza nas mensurações mais profundas.

Subtração radiográfica

Todos os blocos foram radiografados antes e após o experimento *in situ* de indução da lesão de cárie expostos aos diferentes tratamentos. Cada bloco foi montado em uma base de silicona de adição (ESPE 3M, Brasil) a fim de padronizar sua posição nas tomadas radiográficas. As radiografias foram realizadas em aparelho Spectro TimeX[®] em regime de 70kVp, 8mA, 24 cm de distância focal e 0,1s de exposição. Uma moldura de madeira com aproximadamente 2cm de alívio para cada lateral do sensor foi confeccionada, seu interior foi preenchido por silicona, permitindo a estabilização tridimensional do sensor. A moldagem do bloco e a moldura citada foram realizadas para minimizar diferenças de posicionamento do bloco e sensor, garantindo a máxima padronização das imagens inicial e final. O sistema de captura da imagem digital direta intrabucal (CygnusRay[®]) foi utilizado e as imagens (300dpi) foram arquivadas no formato JPEG e analisadas no programa Adobe Photoshop CS3.

A subtração radiográfica foi obtida a partir da sobreposição da imagem inicial sobre a imagem final (após a fase experimental). Com a imagem resultante, todas as medidas de intensidade de pixel (média) foram registradas utilizando uma área padrão correspondendo a 1/9 da medida do bloco. O quadrado padronizado da área de seleção foi posicionado no centro de cada bloco e a ferramenta histograma selecionada para registro do valor correspondente da intensidade de pixel (Figura 1).

Utilizando o quadrado padronizado, foram medidas três áreas controle em três pontos da imagem obtida, em sítios equidistantes fora do bloco dentário, compatível a área da matriz de silicona. A variável intensidade de pixel foi calculada subtraindo o valor *média das áreas controle* da *área teste*, obtida no centro de cada bloco (Figura 1).

Em 10% da amostra as mensurações foram repetidas com uma semana de intervalo para avaliar a reprodutibilidade do examinador. Obteve-se um coeficiente de correlação intraclasse de 0,99 entre as duas mensurações.

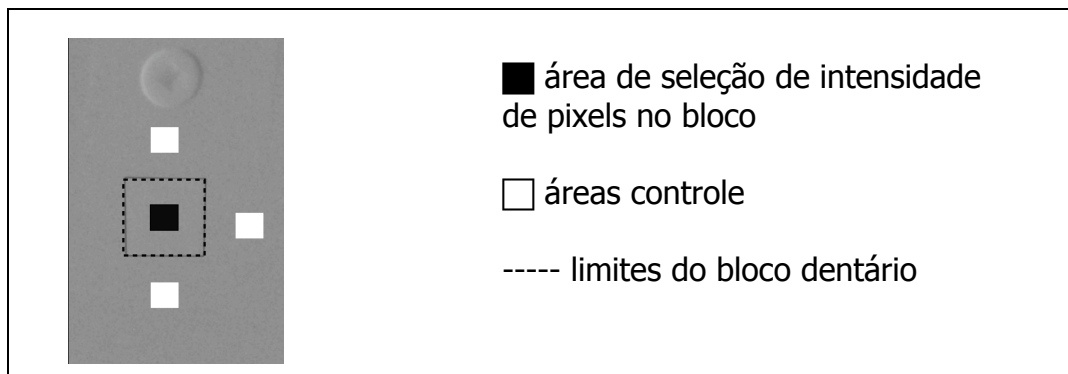


Figura 1. Ilustração referente à subtração da imagem radiográfica digital com suas respectivas áreas de mensuração da intensidade de pixels.

Considerações Éticas

Este protocolo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da FO-UFRGS. Os indivíduos participaram do estudo após terem lido e assinado um consentimento informado. Cabe enfatizar que os dentes utilizados para a realização da pesquisa foram extraídos por indicação do clínico responsável. O termo de doação do elemento dental foi assinado pelos responsáveis da criança doadora do dente.

Análise dos dados

Médias e intervalos de confiança de 95% (IC95%) da perda mineral (ΔS) e da intensidade de pixels foram calculados e reportados para os grupos placebo, dentifrícios de 500 e 1100 ppm F. Mudanças na perda mineral na microdureza e na intensidade de pixel foram comparadas entre os grupos por meio da análise de variância de medidas repetidas e do teste de Bonferroni para múltiplas comparações, tendo o indivíduo como unidade analítica.

Gráficos do tipo *scatter plots* foram gerados para demonstrar a relação entre as mudanças na microdureza transversa (ΔS) e na intensidade de pixel, e retas de função linear foram aplicadas. A correlação entre as duas variáveis foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Pearson. A capacidade

da intensidade de pixel em prever alterações na microdureza transversa foi avaliada empregando-se modelos de regressão linear simples e coeficientes de regressão (β). Nesta análise, o bloco foi considerado a unidade analítica.

Os dados foram analisados com o pacote estatístico SPSS (SPSS 16 for Macintosh, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). As análises foram realizadas de acordo com o substrato (esmalte ou dentina), e o nível de significância foi estabelecido em 5%.

Resultados

Considerando toda a amostra, a subtração radiográfica indicou uma diminuição da intensidade de pixel de 0,80 e 0,58 tons de cinza em esmalte e em dentina, respectivamente (Tabela 1). Não foram observadas diferenças significativas entre as formulações de dentifrício quando a perda mineral foi avaliada por subtração radiográfica. Tanto em esmalte, quanto em dentina, a perda mineral aferida por microdureza transversa (ΔS) foi significativamente maior com uso do dentifrício sem F do que com dentifrícios de 500 e 1100 ppm F.

Tabela 1. Médias (intervalo de confiança de 95%) de intensidade de pixels e ΔS em toda amostra e nos três grupos experimentais de acordo com o substrato.

	Esmalte		Dentina	
	Intensidade Pixel	ΔS	Intensidade Pixel	ΔS
Toda amostra	0,80 (0,20 – 1,40)	4853,1 (4315,9 – 5390,3)	0,58 (0,12 – 1,03)	766,2 (600,6 – 931,8)
Sem F	0,95 (-0,31 – 2,21) A	6068,0 (4553,5 – 7583,4) A	0,29 (-0,77 – 1,35) A	1271,2 (838,2 – 1704,2) A
500 ppm	0,25 (-1,23 – 1,72) A	4207,4 (3473,2 – 4940,5) B	0,75 (-0,24 – 1,74) A	519,3 (251,2 – 787,4) B
1100 ppm	1,20 (0,23 – 2,18) A	4416,9 (3782,4 – 5051,4) B	0,69 (-0,03 – 1,41) A	517,2 (267,5 – 766,8) B

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$)

A Figura 2 mostra a dispersão dos dados de microdureza transversa (ΔS) em relação às mudanças na intensidade de pixels para os dentifrícios sem F, 500 e 1100 ppm F para amostras de esmalte. Como pode-se observar houve grande dispersão dos dados, indicando uma fraca relação entre as variáveis ΔS e intensidade de pixel, independentemente do grupo experimental. De maneira geral, as correlações observadas entre ΔS e intensidade de pixel foram fracas e negativas (inversas), excetuando-se para o dentifrício 1100 ppm F onde se observou uma correlação positiva (Tabela 2). Nenhuma associação significativa foi observada entre ΔS e intensidade de pixel para este substrato. Os valores dos coeficientes de regressão linear seguiram o mesmo padrão, demonstrando que a subtração radiográfica não foi capaz de prever mudanças detectadas pela microdureza transversa em esmalte.

Tabela 2. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e de regressão linear (β) entre perda mineral no ΔS e subtração radiográfica para amostras de esmalte.

	r (EP)	p	β (IC95%)	p
Toda amostra	-0,06 (0,10)	0,59	-52,2 (-243,7 – 139,4)	0,59
Sem F	-0,27 (0,17)	0,16	-311,3 (-758,6 – 136,0)	0,16
500 ppm	-0,10 (0,17)	0,61	-64,8 (-322,9 – 193,3)	0,61
1100 ppm	0,21 (0,17)	0,26	167,5 (-130,9 – 465,9)	0,26

Em dentina, o padrão de dispersão demonstra uma relação positiva entre ΔS e intensidade de pixel (Figura 3). A maior correlação foi observada no grupo sem F (Tabela 3), com um coeficiente de correlação de 0,49 ($p=0,01$). Correlações fracas e não significativas foram observadas para os dentifrícios fluoretados e para toda amostra. No grupo placebo, foi observado um coeficiente de regressão linear significativo igual a 180, demonstrando que cada mudança de um tom de cinza na subtração radiográfica representaria uma alteração de 180 no ΔS . Os demais coeficientes não apresentaram significância estatística.

Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e de regressão linear (β) entre perda mineral no ΔS e subtração radiográfica para amostras de dentina.

	r (EP)	p	β (IC95%)	p
Toda amostra	0,19 (0,08)	0,08	66,4 (-10,4 – 143,2)	0,08
Sem F	0,49 (0,12)	0,01	180,0 (46,8 – 311,2)	0,01
500 ppm	0,05 (0,13)	0,82	11,1 (-87,1 – 109,4)	0,82
1100 ppm	0,14 (0,14)	0,51	39,5 (-81,3 – 160,2)	0,51

EP: erro-padrão; IC95%: intervalo de confiança de 95%

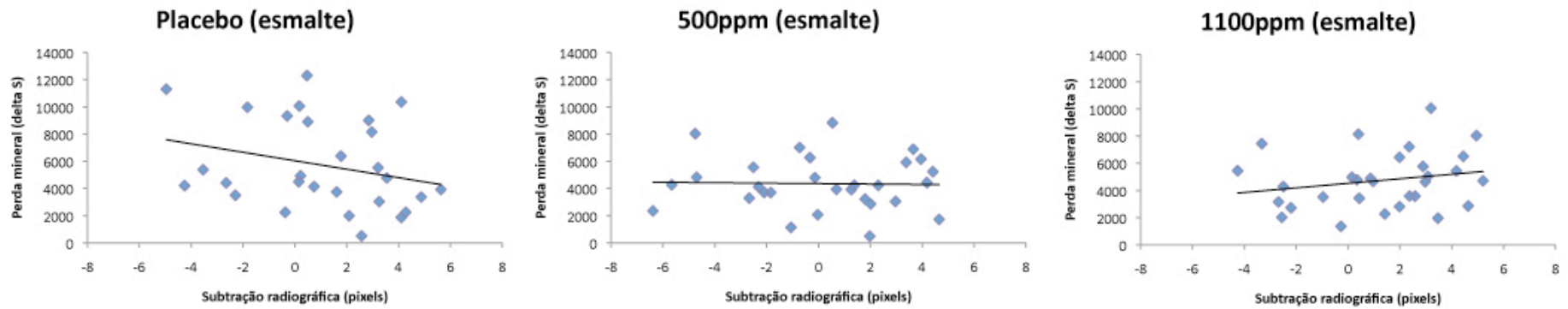


Figura 2. Relação entre perda mineral (ΔS) e subtração radiográfica (intensidade de pixels) frente aos dentifrícios sem F, 500 ppm e 1100 ppm F em esmalte.

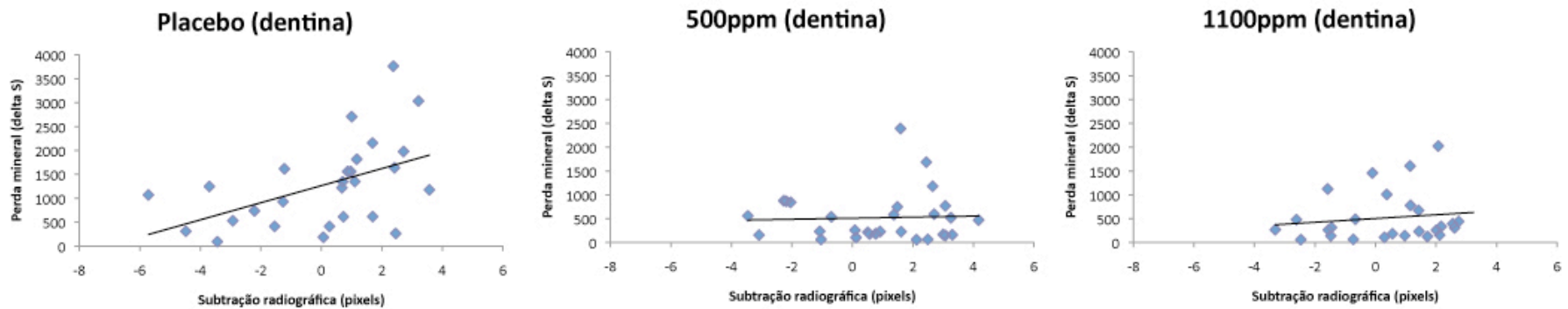


Figura 3. Relação entre perda mineral (ΔS) e subtração radiográfica (intensidade de pixels) frente aos dentifrícios sem F, 500 ppm e 1100 ppm F em dentina.

Discussão

Este estudo experimental *in situ* demonstrou uma fraca correlação entre a perda mineral mensurada por subtração radiográfica digital em comparação àquela medida pela microdureza transversa durante um modelo de desafio cariogênico. Análises de acordo com o substrato dentário demonstraram ausência de relação entre as duas variáveis no esmalte, enquanto alterações na subtração radiográfica estiveram significativamente correlacionadas ao ΔS apenas na dentina exposta ao dentifrício placebo.

No presente estudo observou-se que a subtração radiográfica foi capaz de identificar a perda mineral, tanto em esmalte, quanto em dentina, quando os dados de toda amostra foram analisados (Tabela 1). Outros estudos também utilizaram a subtração radiográfica como método de aferição de perda mineral [Haite-Neto et al., 2005; Pitoni, 2007]. Lesões proximais em esmalte desenvolvidas *in vitro* foram identificadas pela subtração radiográfica [Haite-Neto et al., 2005]. Pitoni [2007] observou o efeito do dentifrício fluoretado (1100 ppm F) em espécimes de dentina radicular de dentes decíduos com lesão de cárie previamente formada e demonstrou que a subtração radiográfica pode identificar pequenas perdas e ganhos minerais ocorridas *in situ*. Comparações diretas entre os estudos são difíceis de serem realizadas em decorrência de diferenças no desenho experimental e nas características das lesões cariosas. Entretanto, a magnitude das lesões dentinárias observadas no estudo *in situ* acima foi compatível ao padrão observado no grupo placebo da presente pesquisa.

Os dados de microdureza (ΔS) mostraram que a lesão formada na presença do dentifrício sem F foi significativamente maior do que as lesões dos dentifrícios fluoretados. Entretanto, a subtração radiográfica não foi sensível para identificar diferenças entre os grupos de dentifrícios. Este achado é corroborado pela alta variabilidade dos dados observada quando a relação entre as duas variáveis foi avaliada de acordo com o tipo de dentifrício (Figuras 1 e 2). De maneira geral, houve baixa relação entre as variáveis ΔS e intensidade de pixel. Foi observada menor dispersão dos

dados entre as variáveis em esmalte e dentina somente na presença do dentifrício sem F. Entretanto, a relação observada em dentina foi diretamente proporcional, enquanto uma relação inversamente proporcional foi identificada em esmalte. Essas diferentes correlações podem ser explicadas pela menor magnitude das lesões em esmalte, não sensíveis à subtração radiográfica [Schmidlin et al., 2002].

Tanto em esmalte quanto em dentina, não foram observadas associações entre a perda mineral detectada pela microdureza e pela subtração radiográfica quando a lesão foi induzida na presença dos dentifrícios 500 e 1100 ppm F. Na presença do dentifrício placebo, houve uma relação linear entre as duas variáveis de perda mineral. Isto pode ser explicado pelo fato de que as lesões cáries foram de maior profundidade quando foram induzidas com dentifrício sem F. Modelos microbiológicos demonstraram a identificação de lesões dentinárias pela subtração radiográfica [Maggio et al., 1990; Minah et al., 1998]. Contextualizando a magnitude da lesão observada, apenas um experimento *in situ* apresentou lesões dentinárias compatíveis com as da presente pesquisa, cujos resultados obtidos mostraram que microdureza e a subtração foram semelhantes [Pitoni, 2007]. Além disso, a compreensão da diferente natureza dos dois métodos de mensuração de conteúdo mineral é fundamental. A microdureza, por exigir seccionamento da amostra, afere o conteúdo mineral transversalmente no espécime, acessando pontualmente o sítio do esmalte e dentina expostos ao desafio cariogênico. Já a subtração radiográfica revela a mudança no conteúdo mineral pela diferença que há entre os registros inicial e final em todo o espécime. Quanto menor a perda, mais diluída é essa observação, aumentando a chance de não se observarem mudanças na perda mineral pelo predomínio de estruturas sobrepostas que não se alteraram. Portanto, identificar a lesão cáries por meio da subtração radiográfica em lesões dentinárias coronárias após 14 dias de desafio cariogênico parece ser um achado bastante interessante da presente pesquisa.

A significativa correlação observada no grupo sem F em dentina mostra que, para este substrato dentário, esta pode ser uma alternativa válida para a

mensuração de perda mineral em estudos *in vitro* e *in situ*. Ainda, pode-se dizer que a relação de equivalência entre as duas variáveis de perda mineral encontrada no presente estudo foi a de que a cada mudança de um tom de cinza ou intensidade de pixel acarretaria em um aumento de 180 unidades de ΔS (Tabela 3, $\beta=180$).

Métodos de avaliação do conteúdo mineral em nível ultraestrutural são ferramentas úteis para avaliação do efeito de alternativas terapêuticas na superfície dentária. A microrradiografia e a microdureza são meios consagrados e validados de mensuração da perda e ganho mineral em esmalte e dentina [Featherstone et al., 1983]. Recentemente introduzida na pesquisa odontológica, a subtração radiográfica demonstra capacidade de identificar pequenas mudanças no conteúdo mineral não detectáveis pela técnica radiográfica convencional [Eberhard et al., 2000; Ricketts et al., 2007]. Além da maior precisão do método, uma de suas principais vantagens é a manutenção da integridade da amostra, viabilizando avaliações do padrão mineral em desenhos experimentais mais complexos, onde a mesma amostra possa ser exposta a diferentes tratamentos e mensurações. Diferentemente da microdureza, a técnica de subtração radiográfica é uma ferramenta cuja interpretação é bastante compreensível no âmbito clínico.

Um dos pressupostos para a realização da subtração radiográfica refere-se à padronização das imagens realizadas em diferentes momentos [Maggio et al., 1990]. Variações das angulações também podem ser associadas à dificuldade de identificar pequenas lesões, uma vez que mínimas variações geométricas em estruturas minerais podem frente a um leve desalinhamento, impedir completamente a detecção da alteração da intensidade de pixel. Além do controle das angulações, garantida por um suporte que manteve as dimensões previamente estabelecidas, o uso da moldagem de silicona como matriz de posicionamento da amostra teve o objetivo de impedir que tais variáveis interferissem na aferição do desfecho. Finalmente, para evitar que mudanças que por ventura pudessem ocorrer entre as exposições radiográficas nos diferentes momentos, utilizou-se áreas controle na imagem

radiográfica (média da intensidade de pixel nos três sítios de silicose externos ao bloco dentário).

Delineamentos futuros que contemplem o desenvolvimento de lesões de magnitudes a partir da observada no grupo sem F podem lançar mão da subtração radiográfica como método de avaliação da perda mineral. Desenvolvimentos pesquisas futuras com diferentes magnitudes de lesões cariosas em esmalte e dentina podem ser úteis na definição do ponto de corte a partir do qual esta técnica de mensuração mineral conservadora garante a melhor sensibilidade.

Conclusões

A subtração radiográfica não foi efetiva na detecção da perda mineral em esmalte em lesões cariosas *in situ* formadas em 14 dias de desafio cariogênico. Em dentina, houve correlação significativa entre a perda mineral detectada pela microdureza e pela subtração radiográfica somente nas lesões induzidas na presença de um dentifrício sem F. Os achados do presente estudo não suportam o uso da subtração radiográfica como único meio de aferição de perda mineral em modelos experimentais cuja magnitude de perda mineral seja compatível a da presente pesquisa.

Referências Bibliográficas

- Cury JA, Francisco SB, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP: In situ study of sucrose exposure, mutans streptococci in dental plaque and dental caries. *Braz Dent J* 2001a;12:101-104.
- Cury JA, Hashizume LN, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP: Effect of dentifrice containing fluoride and/or baking soda on enamel demineralization/remineralization: An in situ study. *Caries Res* 2001b;35:106-110.
- Cury JA, Rebello MA, Del Bel Cury AA: In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res* 1997;31:356-360.
- Cury JA, Rebello MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP: Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res* 2000;34:491-497.
- Eberhard J, Hartman B, Lenhard M, Mayer T, Kocher T, Eickholz P: Digital subtraction radiography for monitoring dental demineralization. An in vitro study. *Caries Res* 2000;34:219-224.
- Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J: Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983;17:385-391.

- Ferreira RI, Haiter-Neto F, Tabchoury CP, de Paiva GA, Boscolo FN: Assessment of enamel demineralization using conventional, digital, and digitized radiography. *Braz Oral Res* 2006;20:114-119.
- Haiter-Neto F, Ferreira RI, Tabchoury CP, Boscolo FN: Linear and logarithmic subtraction for detecting enamel subsurface demineralization. *Dentomaxillofac Radiol* 2005;34:133-139.
- Maggio JJ, Hausmann EM, Allen K, Potts TV: A model for dentinal caries progression by digital subtraction radiography. *J Prosthet Dent* 1990;64:727-732.
- Minah GE, Vandre RH, Talaksi R: Subtraction radiography of dentinal caries-like lesions induced in vitro by cariogenic bacteria. *Pediatr Dent* 1998;20:345-349.
- Pitoni CM: Efeito de fluoretos na remineralização de lesões dentinárias: Estudo in situ; in: Florianópolis, UFSC, 2007, vol Doutorado, p 76.
- Ricketts DN, Ekstrand KR, Martignon S, Ellwood R, Alatsaris M, Nugent Z: Accuracy and reproducibility of conventional radiographic assessment and subtraction radiography in detecting demineralization in occlusal surfaces. *Caries Res* 2007;41:121-128.
- Schmidlin PR, Tepper SA, Scriba H, Lutz F: In vitro assessment of incipient approximal carious lesions using computer-assisted densitometric image analysis. *Journal of dentistry* 2002;30:305-311.
- ten Cate JM, Damen JJ, Buijs MJ: Inhibition of dentin demineralization by fluoride in vitro. *Caries Res* 1998;32:141-147.
- Versteeg KH, van der Stelt PF: Effect of logarithmic contrast enhancement on subtraction images. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 1995;80:479-486.
- White DJ, Featherstone JD: A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro. *Caries Res* 1987;21:502-512.
- Zero DT: In situ caries models. *Adv Dent Res* 1995;9:214-230; discussion 231-214.

Considerações finais

O dentifrício fluoretado tem sido considerado o principal responsável pela redução das estimativas de cárie dental no mundo [Cury et al., 2004]. Apesar da diminuição da prevalência e severidade da cárie dental, ainda é significativa a parcela da população infantil brasileira que apresenta lesões cariosas inclusive com necessidades de intervenção odontológica. Estimativas do levantamento SB 2003, apontam aproximadamente 25% das crianças brasileiras de 18 meses de vida acometidas por lesões cariosas [Projeto SB Brasil 2003, 2004]. Portanto, é fundamental que se considere o uso de dentifrícios fluoretados desde o início da infância.

Apesar do consagrado efeito preventivo para cárie dentária dos dentifrícios fluoretados, seu uso tem sido associado a um evento adverso sistêmico importante, a fluorose dental [Riordan, 1993]. Mesmo sem haver um consenso em ser este um problema de saúde pública, estima-se que de 20 a 50% das crianças apresentem alterações nas estruturas dentárias em função da fluorose dental [Barbachan e Silva and Maltz, 2001; Carvalho et al., 2007; Spencer and Do, 2008]. Na tentativa de reduzir estas estimativas, os dentifrícios de concentração reduzida de flúor tem sido cada vez mais pesquisados, tanto em relação ao seu efeito anticárie quanto ao risco de fluorose. A revisão sistemática apresentada mostra que os dados clínicos não indicam a superioridade de efeito do dentifrício 1100 ppm F comparado ao 500 ppm F [Biesbrock et al., 2003; Ellwood et al., 2004; Holt et al., 1994; Stookey et al., 2004]. Entretanto, quando utilizado por crianças com risco elevado ou atividade cariosa, a progressão das lesões cariosas aumenta em usuários de dentifrício 500 em relação ao 1100 ppm F [Lima et al., 2008]. Apesar da impossibilidade de direta comparação entre dados clínicos e laboratoriais, os achados clínicos podem ser considerados análogos aos desfechos observados no experimento *in situ* (artigo 2), no qual a perda mineral detectada pela microdureza foi equivalente nas lesões em esmalte expostas a dentifrícios 500 e 1100 ppm F. Contudo, nas lesões em dentina

observa-se que apenas o dentifrício 1100 ppm F foi capaz de minimizar a perda mineral em profundidade da dentina.

A perda mineral determinada pela lesão cariosa após 14 dias de desafio cariogênico foi identificada pela subtração radiográfica tanto em esmalte quanto em dentina. Entretanto, apenas nas lesões cariosas dentinárias de maior extensão, desenvolvidas frente a ausência do flúor no dentifrício, mostraram significativa associação com a identificada pela microdureza transversa, corroborando com os achados recentes observados em dentina de dentes decíduos [Pitoni, 2007]. A subtração radiográfica, portanto, pode ser um útil meio de aferição de perda mineral em dentina. Entretanto, ainda são necessários mais estudos, com intuito de definir o ponto de corte a partir de qual extensão de perda mineral apresenta satisfatória sensibilidade para considerar este método como padrão de mensuração de conteúdo mineral.

Portanto, na perspectiva de prevenção de cárie o dentifrício 500 ppm F parece ser tão eficiente quanto o 1100, garantindo menor risco de desenvolver fluorose dental [Do and Spencer, 2007]. Para grupos populacionais de maior risco a cárie e/ou crianças com diagnóstico de atividade de doença, dentifrício convencional 1100 ppm F deve ser a alternativa de escolha. Independentemente do dentifrício utilizado, orientações aos responsáveis quanto aos cuidados que minimizem a deglutição durante a higiene bucal são fundamentais.

Referências bibliográficas

- Ammari AB, Bloch-Zupan A, Ashley PF: Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above. *Caries Res* 2003;37:85-92.
- Barbachan e Silva B, Maltz M: [prevalence of dental caries, gingivitis, and fluorosis in 12-year-old students from porto alegre -- rs, brazil, 1998/1999]. *Pesqui Odontol Bras* 2001;15:208-214.
- Biesbrock AR, Bartizek RD, Gerlach RW, Jacobs SA, Archila L: Effect of three concentrations of sodium fluoride dentifrices on clinical caries. *Am J Dent* 2003;16:99-104.
- Carvalho T, Kehrlé H, Sampaio FC: Prevalence and severity of dental fluorosis among students from João Pessoa, PB, Brazil. *Braz Oral Res* 2007;21:198-203.
- Cury JA, Rebello MA, Del Bel Cury AA: In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Res* 1997;31:356-360.
- 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.
- Do LG, Spencer AJ: Risk-benefit balance in the use of fluoride among young children. *J Dent Res* 2007;86:723-728.
- Ellwood RP, Davies GM, Worthington HV, Blinkhorn AS, Taylor GO, Davies RM: Relationship between area deprivation and the anticaries benefit of an oral health programme providing free fluoride toothpaste to young children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004;32:159-165.
- Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA: Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 2003;37:339-344.
- Holt RD, Morris CE, Winter GB, Downer MC: Enamel opacities and dental caries in children who used a low fluoride toothpaste between 2 and 5 years of age. *Int Dent J* 1994;44:331-341.
- Lagerweij MD, Damen JJ, ten Cate JM: Effect of a fluoridated toothpaste on lesion development in plaque-filled dentine grooves: An intra-oral study. *Caries Res* 1997;31:141-147.
- Lima TJ, Ribeiro CC, Tenuta LM, Cury JA: Low-fluoride dentifrice and caries lesion control in children with different caries experience: A randomized clinical trial. *Caries Res* 2008;42:46-50.
- Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S: Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD002278.
- Marthaler TM: Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 2004;38:173-181.
- Pendrys DG: Risk of fluorosis in a fluoridated population. Implications for the dentist and hygienist. *J Am Dent Assoc* 1995;126:1617-1624.
- Pitoni CM: Efeito de fluoretos na remineralização de lesões dentinárias: Estudo in situ; in: Florianópolis, UFSC, 2007, vol Doutorado, p 76.
- Projeto_SB_Brasil_2003: Condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003. Brasília DF. 2004.
- Ricketts DN, Ekstrand KR, Martignon S, Ellwood R, Alatsaris M, Nugent Z: Accuracy and reproducibility of conventional radiographic assessment and subtraction radiography in detecting demineralization in occlusal surfaces. *Caries Res* 2007;41:121-128.

- Riordan PJ: Dental fluorosis, dental caries and fluoride exposure among 7-year-olds. *Caries Res* 1993;27:71-77.
- Rolla G, Ogaard B, Cruz Rde A: Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: A review. *Int Dent J* 1991;41:171-174.
- Spencer AJ, Do LG: Changing risk factors for fluorosis among south australian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2008;36:210-218.
- Stookey GK, Mau MS, Isaacs RL, Gonzalez-Gierbolini C, Bartizek RD, Biesbrock AR: The relative anticaries effectiveness of three fluoride-containing dentifrices in puerto rico. *Caries Res* 2004;38:542-550.
- ten Cate JM: Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1999;57:325-329.
- ten Cate JM, Damen JJ, Buijs MJ: Inhibition of dentin demineralization by fluoride in vitro. *Caries Res* 1998;32:141-147.

Anexos

Anexo 1

DADOS DE BIOQUÍMICA DO BIOFILME DENTAL RELATIVO AOS DESFECHOS DO EXPERIMENTO DO ARTIGO 2

Tabela 1. Média (\pm desvio-padrão) da concentração de cálcio, fósforo, polissacarídeo intracelular, extracelular solúvel e insolúvel no biofilme cariogênico formado sobre esmalte nos grupos sem F, dentifrícios 500 e 1100 ppm F.

	Ca $\mu\text{mol/g}$	Pi $\mu\text{mol/g}$	PECs $\mu\text{g/mg}$	PECi $\mu\text{g/mg}$	PI $\mu\text{g/mg}$
Sem F	74,76 \pm 33,5a	207,71 \pm 226,3a	27,64 \pm 13,3a	76,5 \pm 80,1a	19,25 \pm 11,8a
500	97,76 \pm 69,7a	182,16 \pm 104,3a	27,44 \pm 10,6a	80,07 \pm 57,3a	18,62 \pm 5,9a
1100	137,07 \pm 129,5a	174,1 \pm 136,7*a	32,07 \pm 28,6a	95,41 \pm 94,4a	18,72 \pm 7,4a

Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$)

* outliers removidos para análise estatística

Tabela 2. Média (\pm desvio-padrão) da concentração de cálcio, fósforo, polissacarídeo intracelular, extracelular solúvel e insolúvel no biofilme cariogênico formado sobre dentina nos grupos sem F, dentifrícios 500 e 1100 ppm F.

	Ca $\mu\text{mol/g}$	Pi $\mu\text{mol/g}$	PECs $\mu\text{g/mg}$	PECi $\mu\text{g/mg}$	PI $\mu\text{g/mg}$
Sem F	102,29 \pm 56,6a	149,34 \pm 82,1a	34,31 \pm 21,8a	71,07 \pm 75,7a	19,32 \pm 9,0a
500	95,28 \pm 80,3a	166,41 \pm 90,5a	30,21 \pm 13,4a	106,12 \pm 102,5a	24,36 \pm 23,5a
1100	89,94 \pm 61,7a	118,0 \pm 70,0*a	25,9 \pm 18,0a	89,87 \pm 132,5a	17,54 \pm 10,0a

Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$)

* outliers removidos para análise estatística

Anexo 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA – PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA – CLÍNICA ODONTOLÓGICA - ODONTOPEDIATRIA

Termo de Consentimento Informado

Este estudo está sendo realizado como requisito do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Doutorado) nesta faculdade e tem como objetivo avaliar a inibição da progressão da cárie em pequenos fragmentos de dentes utilizando um creme dental com menor concentração de flúor. Será realizado em 3 fases de 14 dias, nas quais deverá ser utilizado um aparelho na arcada superior durante todo o dia.

Os possíveis desconfortos associados à participação neste estudo são: a utilização de um aparelho removível na arcada superior e os cuidados que deverá realizar com o mesmo. Serão tomadas todas as medidas necessárias para tornar os procedimentos o mais seguro e confortável possíveis.

Toda e qualquer dúvida será esclarecida pelos envolvidos nesta pesquisa a qualquer momento. Fica assegurada a liberdade do participante de recusar ou abandonar o estudo a qualquer momento.

Declaro que fui informado(a) sobre as etapas do experimento do qual vou participar: moldagem; uso do aparelho intra-bucal e dos cremes dentais. Fui informado(a) de que tais procedimentos não implicarão em danos a minha saúde bucal e geral, e ainda que posso retirar-me do estudo a qualquer momento. Ainda, que recebi uma cópia deste documento.

Nome: _____

Assinatura: _____

Porto Alegre, _____ de _____ de 200_.

Responsáveis pelo estudo:

Adriela Azevedo Souza Mariath e Fernando Borba de Araujo
Telefone para contato: 3308 5027 - - adrielamariath@hotmail.com

Anexo 3

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

RESOLUÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa e a Comissão de Pesquisas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul analisaram o Projeto:

Número: 51/06

Título: BIOQUÍMICA DO BIOFILME E PROGRESSÃO DA LESÃO CARIOSA *IN SITU* EM ESMALTE E DENTINA DECÍDUOS COM DENTIFRÍCIO COM 500 PPM DE FLÚOR

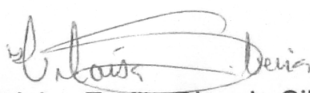
Investigador(es) principal(ais): Professor Fernando B. de Araújo e C.D. Adriela A. S. Mariath

O Projeto foi aprovado na reunião do dia 10/10/2006, Ata nº 10/06 do Comitê de Ética em Pesquisa e da Comissão de Pesquisas, da UFRGS, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 30 de novembro de 2006.



Prof^a. Marisa Maltz
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisas



Prof^a. Heloisa Emília Dias da Silveira
Coordenadora Substituta da Comissão de Pesquisas